

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
Departamento de Química-Física I



**ESTUDIO INTEGRADO DE SÍNTESIS Y
REACTIVIDAD DE NUEVAS α -HALOCETONAS.**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR

Vittorio Pace

Bajo la dirección de los doctores

Andrés Rafael Alcántara León
María Fernández Fernández

Madrid, 2011

ISBN: 978-84-694-2057-7

© Vittorio Pace, 2010

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

Facultad de Ciencias Químicas

Departamento de Química-Física I



**Estudio Integrado de Síntesis y Reactividad de Nuevas α -
Halocetonas**

TESIS DOCTORAL

VITTORIO PACE

Madrid, 2010



*Prof. Dr. D. Andrés R. Alcantara León, Profesor Titular.
Dpto de Química Orgánica y Farmacéutica.
Facultad de Farmacia. Univ. Complutense de Madrid.
Ciudad Universitaria, Plaza de Ramón y Cajal, s/n.
E-28040 MADRID, ESPAÑA.
Tel. nº. +34-913941820. Fax nº. +34-913941822.
E-mail: andresr@farm.ucm.es
<http://www.ucm.es/info/btg/>*

Madrid, a 27 de mayo de 2010

D. ANDRÉS R. ALCÁNTARA LEÓN, Profesor Titular del Departamento de Química Orgánica y Farmacéutica de la Universidad Complutense de Madrid (UCM) y D^a MARÍA FERNÁNDEZ FERNÁNDEZ, Profesora Contratada Doctor del mismo Departamento, en su calidad de DIRECTORES de la Tesis Doctoral de D. VITTORIO PACE,

HACEN CONSTAR QUE:

El trabajo presentado por D. Vittorio Pace para aspirar al grado de Doctor, con título: **“Estudio integrado de síntesis y reactividad de nuevas α -halocetonas”**, reúne, bajo nuestro punto de vista, las características necesarias para alcanzar dicho objetivo, pues, en primer lugar, presenta claramente los Objetivos por alcanzar, que posteriormente son desarrollados de forma completa por lo que respecta a Resultados y Discusión y explicados de manera clara en la sección de Materiales y Métodos. A la luz de lo expuesto en la Tesis Doctoral, es evidente que el doctorando domina correctamente las Técnicas Experimentales empleadas, y por otra parte, la Bibliografía empleada es amplia y bien actualizada.

El trabajo es muy valioso, pues presenta una serie de novedosas metodologías sintéticas para la preparación de α -halocetonas, compuestos muy versátiles, que posteriormente pueden ser utilizados para la preparación de múltiples estructuras con actividad biológica, ejemplo de lo cual es la obtención de oxazolidinonas enantioméricamente puras con actividad antibacteriana.

Por todo ello informamos muy favorablemente acerca de la mencionada Tesis Doctoral, por lo que bajo nuestra opinión procede la exposición y defensa de la misma.

Prof. Dra. D^a María Fernández

Prof. Dr. D. Andrés R. Alcantara León.

Dpto de Química Orgánica y Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Univ. Complutense de Madrid.

*A mio padre, per la stima infinita e
per il carattere di ferro che mi ha
forgiato.*

Quisiera expresar mi más sincero agradecimiento:

Al Prof. Dr. Andrés R. Alcántara León, Profesor Titular del Departamento de Química Orgánica y Farmacéutica, por la dirección magnífica de este trabajo y por sus valiosas enseñanzas multidisciplinarias desde la Química Orgánica hasta la Informática. En particular, querría resaltar la gran estima demostrada hacia mi persona tanto desde el punto de vista profesional como humano. Asimismo por haber despertado un sentido crítico a la hora de abordar un problema químico que, sin duda alguna, representa lo que diferencia un técnico de un futuro Doctor. Nunca le seré suficientemente agradecido por todas las experiencias que me ha permitido realizar durante la Tesis Doctoral, desde las estancias en Trieste, Gent y Graz al apoyo incondicional a la hora de ayudarme en la búsqueda de una posición Posdoctoral.

A la Dra. María Fernández, por la codirección de este trabajo y la colaboración en su desarrollo.

Al Dr. José Vicente Sinisterra Gago, Catedrático de Química Orgánica y Farmacéutica, por brindarme la oportunidad de realizar la Tesis Doctoral en su grupo de investigación tanto en los laboratorios de la UCM como del Parque Científico de Madrid y por haberme permitido conseguir una prestigiosísima Beca de Formación de Profesorado Universitario del Ministerio de Ciencia e Innovación de España (Ref. AP2005-5112).

Al Ministerio de Ciencia e Innovación de España por el apoyo económico que ha supuesto la concesión de una beca predoctoral según un procedimiento de concurrencia competitiva completamente limpio, tal y como se requiere en un Estado...Sin esta beca nunca hubiese podido realizar las tres estancias en el extranjero...

A los demás profesores del grupo de Biotransformaciones, la Dra. M^a José Hernáiz, el Dr. José M^a Sánchez-Montero, la Dra. Pilar Hoyos por sus sabios consejos.

I am indebted to Prof. Dr. Ir. Norbert De Kimpe, to allow me to join his research Group at the Department of Organic Chemistry of the University of Ghent (Belgium). Maybe, in his group I understood that Organic Chemistry will be my future...I would thank to dr. Guido Verniest, as well all the members of the Group, for their professional support.

Alla Prof. Lucia Gardossi del Dipartimento di Scienze Farmaceutiche dell'Università degli Studi di Trieste per avermi dato la possibilità di trascorrere cinque favolosi mesi nella Bella Trieste. In particolare, esprimo il mio più vivo ringraziamento alla Dott.ssa P. Spizzo e al collega e grande amico Dr. V. Ferrario, per essere stato spalla ideale in laboratorio e compagno di tante serate al Molo Audace in Piazza Unità..

I would thank to Prof. Wolfgang Kroutil for the stays realized in his Group in Graz as a consequence of the Spanish-Austrian Cooperation (Ref. 2007-0023,) to give me the opportunity to perform Biocatalysis studies. I am indebted to Dr. F. Mutti for his constant support in the lab.

Rivolgo il più sentito ringraziamento al Prof. Massimo Curini dell'Università degli Studi di Perugia per avermi fatto conoscere la Chimica Organica e ad essa avermi avviato prima come Docente, e poi durante la Tesi di Laurea sotto la guida preziosa di una persona stupenda ed eminente uomo di Scienza quale il Dott. Ornelio Rosati è. Ricordo ancora il 7 febbraio 2002 quando al termine dell'Esame di Chimica Organica il Prof. Curini mi disse: Pace, ricordati di me quando dovrai fare la Tesi. Grazie, davvero. Una pena essere stato fuori in modo vigliacco da un plotone d'esecuzione come sappiamo ma, chiusa una porta, aperto un Portone. Io non dimentico.

Al Ldo. D. Álvaro Cortés-Cabrera por su ayuda incondicional y desinteresada en todo momento.

Al Dr. V. Sridharan por su amistad y por ser siempre disponible a charlar de Química Orgánica, por su apoyo y sus sabios consejos.

Ai miei Amici conosciuti a Perugia Rosario, Milhouse, Manolo, Gianluca, Riso il tempo passa..ma state sempre là...che fortuna avervi conosciuto...viaggi, serate, sfondate...(Riso, tu no).

All'amico Lauria compagno di serate uniche al Red Zone: l'ho sempre detto che un anno bello come l'ultimo a Perugia é impossibile da rivivere...quando le feste iniziavano il lunedì e finivano la domenica mattina...E la Tribal House mi risuona ancora dentro...

Alle mie compagne di corso a Perugia: Laura, Elisabetta e Rita..per tutti i bei momenti passati con voi e col Foggiano...

Al Dr. D. Fernando Martínez Lagos, grandísimo Amigo que me ha ayudado y apoyado desde el principio de mi experiencia en Madrid...gracias por haber sido tan buen compañero de viaje a Ibiza, Lisboa, Perugia, Berlin, mi mentor en el laboratorio ... y por haberme presentado personas estupendas del calibre de Richard & Co. Ahí el Torero...

Ai miei compagni di casa: Riccardo, Maximinho e il Moro..che bello essere stato con voi per quasi 4 anni...momenti indelebili fissi davanti ai miei occhi..Alla colonia del Bel Paese: Matteo, Pepao...per le belle serate....

Alla migliore amica, Giacinta...quante confessioni...ad maiora!

Ai miei amici di Palata: Luca, Gina, Margherita, Pasqualino, Luca, Stefano....só diez ann c m n só jut..ma sempr d la Palat só....

A todos los miembros del Departamento de Química Orgánica y Farmacéutica por haberme tratado cordialmente durante estos años

A otros compañeros del Departamento de Química Orgánica y Farmacéutica, por vuestra simpatía y amistad; in particolare a Laura per aver dato spritz alla fine del mio dottorato..per avermi accompagnato tre giorni e tre notti intere nella stesura della tesi.

A mia madre perchè stravede per me.

Resumen Tesis Doctoral de D. Vittorio Pace

Directores: Prof. Dr. A. R. Alcántara León; Profa. Dra. María Fernández Fernández

Estudio Integrado de Síntesis y Reactividad de Nuevas α -Halocetonas

Las α -halocetonas representan una clase de compuestos orgánicos muy versátiles y con mucha utilidad en distintas áreas de la Síntesis Orgánica. En ese sentido, tras una completa búsqueda bibliográfica, no se pudo encontrar información alguna sobre derivados de tipo α -halo- α' -arilamino-2-propanonas, por lo cual en esta Tesis se propone un estudio exhaustivo encaminado a la síntesis de estas estructuras.

Puesto que la reacción de síntesis directas a partir de 1,3-dicloroacetona mediante desplazamiento nucleofílico no es aplicable, por diferentes motivos pertinentemente explicados en la Memoria de la Tesis, se han planteado otras rutas sintéticas distintas:

- a) La primera se basa en la hidrólisis oxidativa de las correspondientes aminas aromáticas secundarias que poseen una función tipo cloruro de vinilo mediante reacción con hipocloritos. El uso del grupo protector trifluoroacetamido, fácil de introducir y eliminar resulta imprescindible para llevar a cabo la síntesis de las moléculas diana con rendimientos cuantitativos. Como paso previo a la oxidación, se precisó la puesta a punto de un método preparativo de dichos cloruros vinílicos basado en la reacción altamente quimioselectiva entre una amina aromática y un electrófilo alílico en presencia de fluoruro de potasio soportado sobre Celite. Debido a la versatilidad de dicha base, modificable en función del soporte empleado, se extendió su empleo a reacciones tipo Horner-Wadsworth-Emmons para la preparación de sistemas tricíclicos y a la *N*-alquilación de derivados de ftalimidas en un disolvente de bajo impacto ambiental, cual es el 2-metiltetrahydrofurano.
- b) Puesto que la hidrólisis oxidativa no es aplicable a estructuras aromáticas activadas por sustituyentes donadores de electrones, se estudió la reacción de oxidación directa de la halohidrina. En este caso, la presencia de enlaces de hidrógeno intra e intermoleculares de dichos alcoholes, detectada por cálculos cuánticos y espectroscopía IR, imposibilitan la oxidación directa. Sin embargo, la ruptura de dichos enlaces mediante la introducción de grupos protectores de nitrógeno permite la oxidación de manera muy sencilla. Esta técnica sintética tiene la ventaja con respecto a la basada en la hidrólisis oxidativa de ser aplicable a todo tipo de sustratos.
- c) Debido a los antecedentes bibliográficos del uso de reacciones tipo Arndt-Eistert para la síntesis de halocetonas previo aislamiento de las correspondientes diazocetonas, se desarrolló un método para la preparación de estructuras similares empleando tan solo un equivalente de un reactivo peligroso (diazometano) en presencia de óxido de calcio, el cual actúa como *acid scavenger*. Desafortunadamente, la alquilación con derivados de diazocetonas sólo resultó ser aplicable a aminas aromáticas protegidas con grupos protectores tipo tosilo, de difícil remoción.
- d) Finalmente, se ha realizado un estudio enfocado a determinar la aplicabilidad de reacciones de homologación de ésteres a α -halocetonas mediante el empleo de carbenóides de litio. Esta metodología es aplicable en el caso de sustratos que no

presenten hidrógenos ácidos que pueden ser abstraídos por la base de litio necesaria para la formación del carbenoide mismo.

Por último, y debido al uso potencial de cetonas en síntesis asimétrica en calidad de sustratos proquirales, se realizaron estudios de modelado molecular (*dockings* y dinámicas moleculares) basados en sustratos reducidos experimentalmente con la enzima alcohol-deshidrogenasa de *Thermus thermophilus* que permitieron esclarecer el mecanismo catalítico de la reducción así como obtener un modelo predictivo de tipo cuantitativo para la evaluación de posibles otros sustratos. Entre ellos, destaca la posibilidad de reducir de manera enantioselectiva una serie de cetonas sintetizadas en esta Memoria.

ABREVIATURAS

Ac: Acetilo

ADH: Alcohol deshidrogenasa

AKRs: Aldo-ceto reductasas

Ala: Alanina

a.q.: Acuoso

Ar: Arilo

Bn: Bencilo

Boc: *tert*-Butoxicarbonilo

Bu: Butilo

Bz: Benzoilo

Calcd.: *Calculated* (calculado)

CAN: Nitrato cérico (IV) amónico

cat.: Cantidad catalítica

Cbz: Benciloxicarbonilo

CRs: Carbonil reductasas

cuant.: Cuantitativo

Cy: Ciclohexilo

DCC: 1,3-Diciclohexilcarbodiimida

DCE: 1,2-Dicloroetano

DEPT: *Distortionless enhancement of polarisation transfer*

DIPEA: *N,N,N*-Diisopropiletilamina

DMAP: 4-*N,N*-Dimetilaminopiridina

DME: 1,2-Dimetoxietano

DMF: *N,N*-Dimetilformamida

DMP: Periodinano de Dess-Martin

DMSO: Dimetilsulfóxido

EDG: Grupo donador de electrones
(*electron donating group*)

Et: Etilo

EWG: Grupo atractor de electrones
(*electron withdrawing group*)

FDH: Formiato deshidrogenasa

FMN: Mononucleotido de flavina

G-6-PDH: Glucosa 6-fosfato
Deshidrogenasa

GC: Cromatografía de gases

GC-MS: Cromatografía de gases acoplada
a espectrometría de masas.

GDH: Glucosa deshidrogenasa

HMPA: Hexametilfosforamida

His: Histidina

HOBT: Hidroxibenzotriazol

HPLC: Cromatografía líquida de alta
resolución

i-Pr: Isopropilo

IR: Infrarrojo

LDA: Diisopropilamiduro de Litio

LHMDS: Hexametildisililazida de litio

LTMP: 2,2,6,6-Tetrametilpiperiduro de
litio

Lys: Lisina

mCPBA: Ácido *meta*-cloroperbenzóico

MDRs: Deshidrogenasas/ Reductasas de
cadena media

Me: Metilo	quant: Cuantitativo
2-MeTHF: 2-Metiltetrahidrofurano	RMN: Resonancia magnética nuclear
Moc: Metoxicarbonilo	rt: <i>room temperature</i>
Ms: Metanosulfonilo	s-Bu: <i>sec</i> -Butilo
NAD(H): Nicotinamida adenina dinucleótido (reducido)	SDRs: Deshidrogenasas/ Reductasas de cadena corta
NADP(H): Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (reducido)	SEM: Trimetilsililetoximetilo
NBS: <i>N</i> -Bromosuccinimida	t.a.: Temperatura ambiente
n-Bu: Butilo	Ser: Serina
NCS: <i>N</i> -Clorosuccinimida	TBAF: Fluoruro de tetrabutilamonio
NIS: <i>N</i> -Iodosuccinimida	t-Bu: <i>tert</i> -Butilo
NMM: <i>N</i> -Metilmorfolina	t-BuO: <i>tert</i> -butóxido
NMO: Óxido de <i>N</i> -metilmorfolina	Tf: Triflato (trifluorometanosulfonilo)
NMR: <i>Nuclear magnetic resonance</i>	TEA: <i>N,N,N</i> -Trietilamina
Np: 3-Nitrofenilo	TFA: Ácido trifluoroacético
n-Pr: Propilo	TFAA: Anhídrido trifluoroacético
PCC: Clorocromato de piridinio	TFE: Trifluoroetanol
PDC: Dicromato de piridinio	THF: Tetrahidrofurano
PFC: Fluorocromato de piridinio	THP: Tetrahidropirano
PG: Grupo protector	TMEDA: Tetrametiletildiamina
Ph: Fenilo	TMS: Trimetilsililo
PhH: Benceno	TPAP: Perrutenato de tetrapropilamonio
PhMe: Tolueno	Ts: Tosilo (<i>p</i> -toluenosulfonilo)
Phth: Ftaloilo	Tt: <i>Thermus thermophilus</i>
PMB: 4-Metoxibencilo	Tyr: Tirosina
PTDH: Fosfito deshidrogenasa	Val: Valina
PTSA: Ácido <i>p</i> -toluenosulfónico	VIH: Virus de la Inmunodeficiencia Humana
Py: Piridina	

1. Introducción	1
<i>1.1. Antibacterianos Oxazolidin-2-ónicos en Química Farmacéutica</i>	<i>3</i>
<i>1.2. Mecanismo de acción antibacteriano de las oxazolidinonas</i>	<i>7</i>
<i>1.3. Antecedentes bibliográficos de la síntesis del linezólido</i>	<i>8</i>
<i>1.4. Planteamiento de una síntesis quimioenzimática</i>	<i>11</i>
<i>1.5. α-amino-α'-halometilcetonas en Síntesis Orgánica</i>	<i>12</i>
<i>1.5.1. Preparación de α-amino-α'-halometilcetonas via reacciones Arndt-Eistert</i>	<i>13</i>
<i>1.5.2. Preparación de α-amino-α'-halometilcetonas mediante la homologación de ésteres con metililuro de dimetilsulfoxonio (reactivo de Corey-Chaykovsky)</i>	<i>15</i>
<i>1.5.3. Preparación de α-amino-α'-halometilcetonas mediante oxidación de las correspondientes halohidrinas</i>	<i>16</i>
<i>1.5.4. Preparación de α-aminoalquil-α'-halometilcetonas mediante carbenóides de litio</i>	<i>17</i>
<i>1.5.4.1. Preparación y Reactividad de los carbenóides de litio</i>	<i>17</i>
<i>1.5.4.2. Aplicación de la reacción de homologación de derivados de ácidos carboxílicos con carbenóides de litio para la síntesis de α-aminoalquil-α'-halocetonas</i>	<i>20</i>
<i>1.5.5. Rutas sintéticas alternativas para la preparación de α-aminoalquil-α'-halocetonas</i>	<i>25</i>
<i>1.6. Biorreducciones de compuestos carbonílicos para la obtención de alcoholes enantioméricamente puros</i>	<i>28</i>
<i>1.7. Bibliografía</i>	<i>36</i>
 2. Objetivos	 43
2. Objetivos	45
 3. Resultados y Discusión Integradora	 47
<i>3.1. Introducción</i>	<i>49</i>
<i>3.2. Síntesis de estructuras tipo 3-arilamino-1-cloropropan-2-ona mediante hidrólisis oxidativa de cloruros vinílicos</i>	<i>51</i>
<i>3.8. Bibliografía</i>	<i>81</i>

4. Conclusiones **85**

4. Conclusiones..... 87

1. INTRODUCCIÓN

1. Introducción

1.1. Antibacterianos Oxazolidin-2-ónicos en Química Farmacéutica

De los 35 millones de individuos ingresados cada año en los hospitales americanos, se estima que 2 millones de ellos se ven afectados por las llamadas infecciones hospitalarias o nosocomiales, que pueden provocar la muerte de los infectados en el 5% de los casos. El 70% de dichas infecciones proceden de la contaminación con bacterias patógenas resistentes a los antibióticos comunes.¹ La mayoría de estas infecciones son causadas por microorganismos patógenos Gram-positivos, entre los cuales están comprendidos los más problemáticos como el *Staphylococcus aureus* y el *Staphylococcus epidermidis* (resistentes a la meticilina), el *Enterococcus faecium* (resistente a la vancomicina) y el *Streptococcus pneumoniae* (resistente a la penicilina).

Efectivamente, desde que se puso de manifiesto la resistencia a la meticilina, la vancomicina ha constituido el único fármaco activo contra los microorganismos del género *Staphylococcus sp.* La determinación de la posibilidad de emplear otro tipo de estructuras antibacterianas sólo puede llevarse a cabo mediante la identificación precisa del microorganismo: sin embargo, en la práctica clínica, el uso de la vancomicina suele ser empírico, puesto que los estudios identificativos del patógeno no se realizan por motivos económicos. Como consecuencia, el uso muchas veces impropio e injustificado de este antibiótico ha favorecido la manifestación de fenómenos de resistencia esencialmente intratables.

Normalmente, el fenómeno de la resistencia a los antibacterianos se intenta minimizar mediante distintas estrategias que pueden resumirse en:

- a) modificación de fármacos conocidos, como en el caso de los antibióticos macrólidos claritromicina, azitromicina y telitromicina derivados de la eritromicina A o de la tetraciclina tigeciclina derivada de la minociclina;
- b) uso combinado de agentes que presentan un distinto y complementario mecanismo de acción (trimetoprim-sulfametaxazol, o amoxicilina-ácido clavulánico).

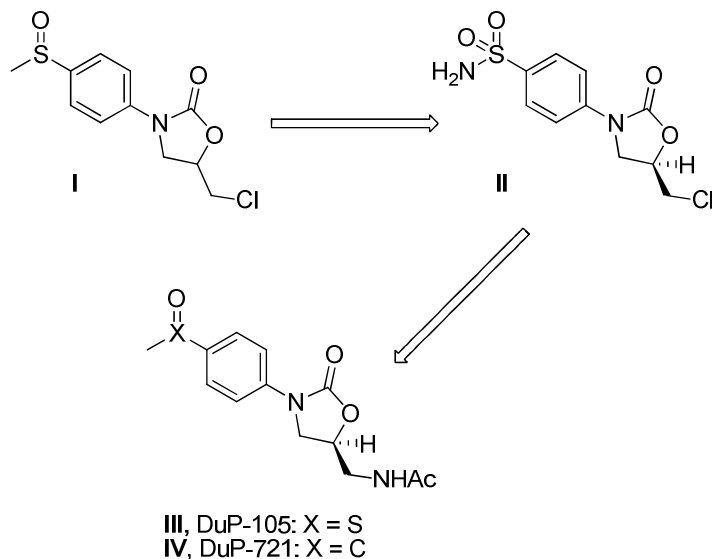
En este sentido, la estrategia de diseñar y desarrollar antibacterianos que actúen a través de un mecanismo de acción novedoso representa la herramienta más válida para combatir los fenómenos de resistencia cruzada que suelen manifestarse entre moléculas pertenecientes a la misma clase terapéutica. Sin embargo, debido a las dificultades relacionadas con el proceso de “*drug discovering*”, el uso sistemático en Química Farmacéutica de esta metodología continúa siendo un objetivo difícil de lograr.

En el año 2000, la Food and Drug Administration (FDA) aprobó el uso del linezólido (Zyvox®), desarrollado en la compañía Upjohn, para el tratamiento de infecciones resistentes a los antibacterianos comunes. Es de destacar el hecho de que este antibacteriano, perteneciente a la clase de las oxazolidinonas, representa el primer ejemplo de una nueva familia de antibacterianos que actúa con un mecanismo completamente novedoso con respecto a los hasta entonces conocidos. Efectivamente, el último mecanismo descrito antes del desarrollo del linezólido data de 1963, época en la que se desarrolló el ácido nalidíxico precursor de las quinolonas.

El descubrimiento de las oxazolidin-2-onas como antibióticos se efectuó en la compañía Du Pont en los años 80, y los resultados del estudio se presentaron en la “*Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy*” celebrada en New York en 1987,² en la cual se matizó la actividad de dos estructuras identificadas como DuP-105 y DuP-721 hacia microorganismos Gram positivos. Entre sus características se destacó:

- 1) la potente actividad *in vitro* y la eficacia por vía oral hacia patógenos multirresistentes como *Staphylococcus aureus* y *Mycobacterium tuberculosis*;
- 2) la imposibilidad encontrada por los investigadores de Du Pont en identificar cepas bacterianas resistentes a estas estructuras *in vitro*;
- 3) los parámetros farmacocinéticos calculados y encontrados en ratas indicaban el posible suministro tanto por vía oral como parenteral;
- 4) el origen totalmente sintético de estas estructuras dotadas de un novedoso mecanismo de acción.

Como muchas veces suele ocurrir en Química Farmacéutica, el descubrimiento de nuevas moléculas activas suele ser por azar (*serendipity*): efectivamente, los compuestos DuP-105 (**III**) y DuP-721 (**IV**) se obtuvieron durante un proceso de optimización de una serie de 5-halometil-3-feniloxazolidin-2-onas, tipo **I**, racémicas empleadas en fitoquímica. El precursor directo de estas estructuras fue el compuesto S-1623 que mostró una modesta actividad *in vitro* e *in vivo* hacia distintas bacterias Gram-positivas y Gram-negativas.³ Este mismo estudio puso de manifiesto el requerimiento de una determinada estereoquímica a nivel del carbono-5 del anillo oxazolidin-2-ónico, que se mantenían en las cabezas de serie DuP-105 y DuP-721. (Esquema 1.1)



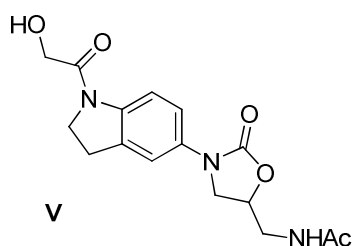
Esquema 1.1. Desarrollo de estructuras oxazolidin-2-ónicas con actividad antibacteriana.

Los primeros estudios de relaciones estructura-actividad (SAR) permitieron esclarecer los requerimientos estructurales esenciales para observar actividad terapéutica y por lo tanto contribuir al diseño del farmacóforo:

- 1) la presencia de un sustituyente aromático a nivel del nitrógeno heterocíclico;

- 2) la posición 5 del anillo heterocíclico funcionalizada con un grupo *N*-acetamidometilo con configuración *S*;
- 3) la sustitución del anillo aromático en su posición *para* con una función atractora de electrones (EWG);
- 4) posteriores sustituciones a nivel del anillo aromático no tienen efecto o incluso reducen la actividad.

Debido a las evidencias de toxicidad encontradas durante el desarrollo de los ensayos clínicos, la compañía Du Pont eliminó en 1989 de su agenda el estudio de estas estructuras como antibacterianos.⁴ Este hecho representaba, por una parte, un motivo válido para que los intereses de Pharmacia se detuvieran, pero por otra parte constituían un desafío de gran relevancia puesto que, de acuerdo con sus investigadores, hubiese sido posible determinar un candidato exento de fenómenos tóxicos. Para ello, se efectuó un estudio comparativo entre el compuesto descartado por Du Pont, DuP-721, y un nuevo candidato preparado en la misma Upjohn (U-97456), **V**, que presenta una función indolinónica a nivel del anillo aromático.⁵ Este último destacó por la ausencia de toxicidad encontrada en las caviás animales a la hora de suministrarlo en forma racémica,



Este hecho representó la demostración que la intuición de los científicos de Pharmacia era correcta, con lo cual esta compañía decidió comenzar un estudio exhaustivo destinado a identificar una serie de compuestos activos para su eventual empleo en ensayos clínicos, que culminó en la identificación de tres subclases de oxazolidinonas correspondientes a: piperazinilfeniloxazolidinonas (**VI**), 5'-indoliniloxazolidinonas (**VII**), troponiloxazolidinonas (**VIII**).⁶ (Figura 1.1)

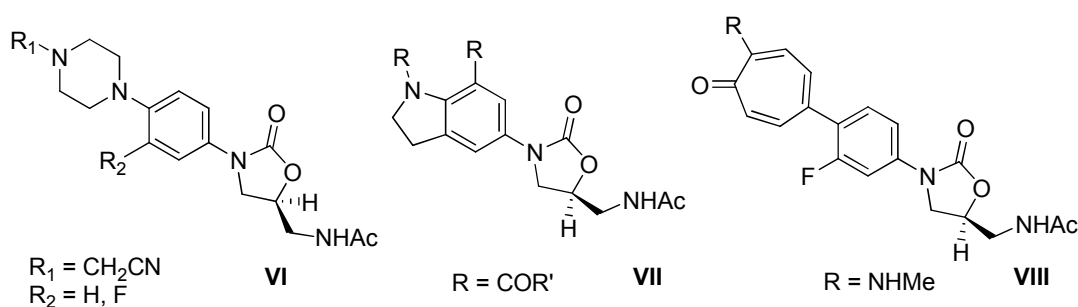


Figura 1.1. Clases de oxazolidin-2-onas destinadas a los ensayos clínicos.

Como se puede ver, estos investigadores decidieron estudiar también estructuras que no presentasen exclusivamente en la posición *para* del anillo aromático sustituyentes atractores de electrones, sino también donadores de electrones como es el caso de una función piperazínica. A este respecto, hay que considerar que la introducción de una amina en un potencial fármaco puede aumentar su solubilidad en plasma debido a la protonación a pH fisiológico; en este

sentido, los primeros estudios de relación-actividad evidenciaban buenos perfiles terapéuticos para aquellas estructuras que presentaban un átomo de nitrógeno en la posición *para* del imprescindible anillo aromático. Más aún, se consideró, de acuerdo con los estudios SAR de los quimioterápicos quinolónicos, que tanto la introducción de un átomo de flúor como la sustitución isostérica piridina-piperazina, pudiesen mejorar el perfil general de los candidatos fármacos.

En efecto, las estructuras más activas y menos tóxicas resultaron ser las piperazinilfeniloxazolidinonas(VI), las cuales, desde un punto de vista sintético, eran las estructuras más fáciles de preparar; por otra parte, la función amínica libre de la piperazina podía ser susceptible de posteriores modificaciones mediante una química sencilla.⁷ Tal y como se puede observar, la introducción de un átomo de flúor de manera similar a lo que ocurrió en su tiempo para las quinolonas proporciona derivados con mayor potencia y mejor perfil farmacocinético. A partir de estas consideraciones se puede detallar un nuevo perfil de relaciones estructura-actividad diferente del desarrollado en su tiempo por la compañía Du Pont, y que se esquematiza de la siguiente forma:

1. Para la actividad se requiere un grupo *N*-arilo;
2. La configuración del carbono-5 de la oxazolidinona debe ser de tipo *S*;
3. El grupo acetamidometil en la posición 5 del heterociclo es esencial;
4. La fluoración del anillo aromático aumenta la eficacia;
5. La presencia de un átomo de nitrógeno donador de electrones a nivel del sustituyente en la posición *para* del anillo aromático es bien tolerada y contribuye a mejorar el perfil toxicológico.

Como consecuencia de estas nuevas relaciones estructura-actividad, la compañía Pharmacia desarrolló dos potenciales candidatos para los ensayos clínicos en seres humanos: el eperezólido (PNU-100592, **IXa**) y el linezólido (PNU-100766, **IXb**). (Figura 1.2)

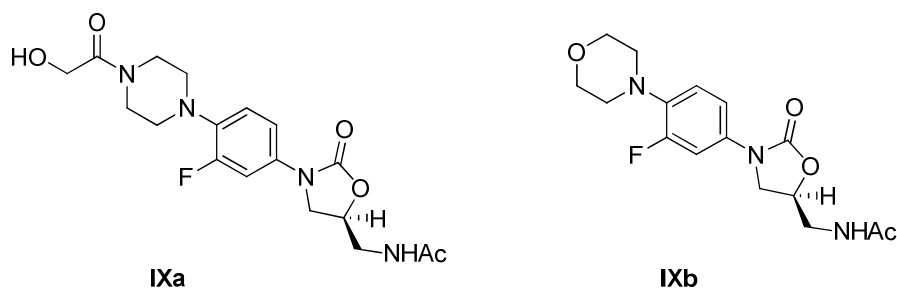


Figura 1.2. Estructuras del eperezólido y del linezólido.

De manera significativa, las características farmacocinéticas y farmacodinámicas de estas dos estructuras eran virtualmente idénticas en animales, de manera que la misma compañía tomó la decisión, bastante inusual, de proceder a los estudios de fase I con ambos candidatos. Efectivamente, se evidenció una diferencia significativa en su distribución hemática que puso de manifiesto el mejor perfil del linezólido, por lo cual se decidió continuar los estudios únicamente con este fármaco, que hoy en día está autorizado para el tratamiento de infecciones nosocomiales causadas por agentes Gram-positivos del tipo *S. aureus*, *S. pneumoniae* y *E.*

faecium. Normalmente, suele ser bien tolerado y provoca efectos colaterales de poca importancia como diarrea (3-11%), náusea (3-10%) o dolor de cabeza (1-11%). El uso prolongado es responsable de mielosupresión reversible con la suspensión del fármaco.

1.2. Mecanismo de acción antibacteriano de las oxazolidinonas.

Las oxazolidin-2-onas desde el principio llamaron a la atención la comunidad científica por el mecanismo totalmente novedoso con el cual actúan. Los estudios destinados a la identificación molecular de este mecanismo se llevaron a cabo empleando el eperezólido (IX) en experimentos de “binding” con la subunidad 50S del ribosoma.⁸ Se ha postulado que este mecanismo es diferente del descrito para otros inhibidores de la síntesis proteica como el cloranfenicol y la lincomicina. Sin embargo, los sitios de unión del cloranfenicol y de las oxazolidinonas son contiguos. Basándose en estas consideraciones, se ha determinado que estos antibacterianos se enlazan a nivel del sitio P de la subunidad 50S ribosómica y la formación del complejo fármaco-subunidad 50S inhibe la formación del complejo de iniciación 70S responsable de la activación de la translación.⁹ (Figura 1.3)

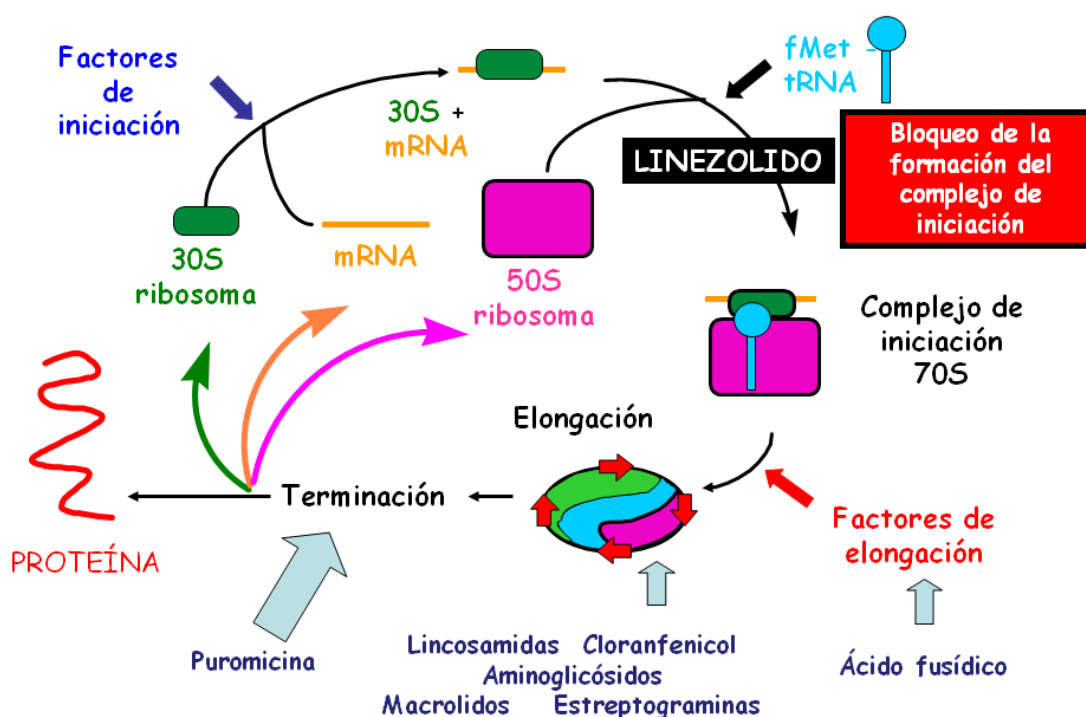


Figura 1.3. Mecanismo de acción de las oxazolidin-2-onas.

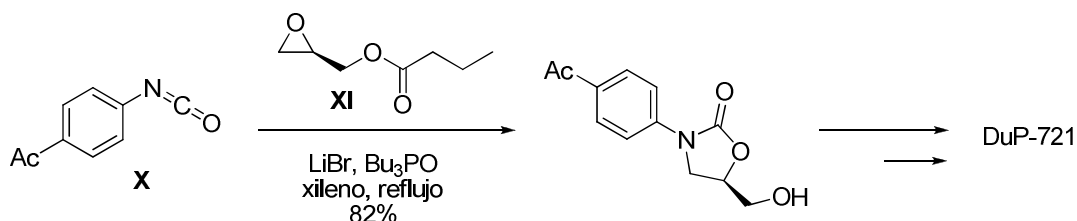
En particular, la unión del fármaco a nivel del sitio P interfiere con la unión del factor de iniciación fMet-tRNA en este mismo sitio, con lo cual el proceso de síntesis proteica bacteriana

se ve bloqueado en un estadio preliminar demostrando así su eficacia contra los microorganismos Gram-positivos resistentes a los antibióticos y quimioterápicos más tradicionales. Aunque descritos, los fenómenos de resistencia son mínimos debido a la razón fundamentales por la cual sus estructuras totalmente sintéticas, “no han sido vistas” anteriormente por los microorganismos.

1.3. Antecedentes bibliográficos de la síntesis del linezólido.

El anillo 1,3-oxazolidin-2-ónico es un carbamato cíclico presente solo marginalmente en ámbito natural (*e.g.* (-)-citoxazona),¹⁰ aunque por otra parte ha representado un motivo sintético capaz de suscitar gran atención en síntesis orgánica, tanto por su presencia en moléculas dotadas de actividad biológica (*e.g.* antibacterianos tipo-linezólido, inhibidores de las monoaminooxidasas de tipo A simil-toloxatona)¹¹ como por la versatilidad en síntesis asimétrica de las oxazolidin-2-onas sustituidas en la posición 4 por ser auxiliares quirales.¹²

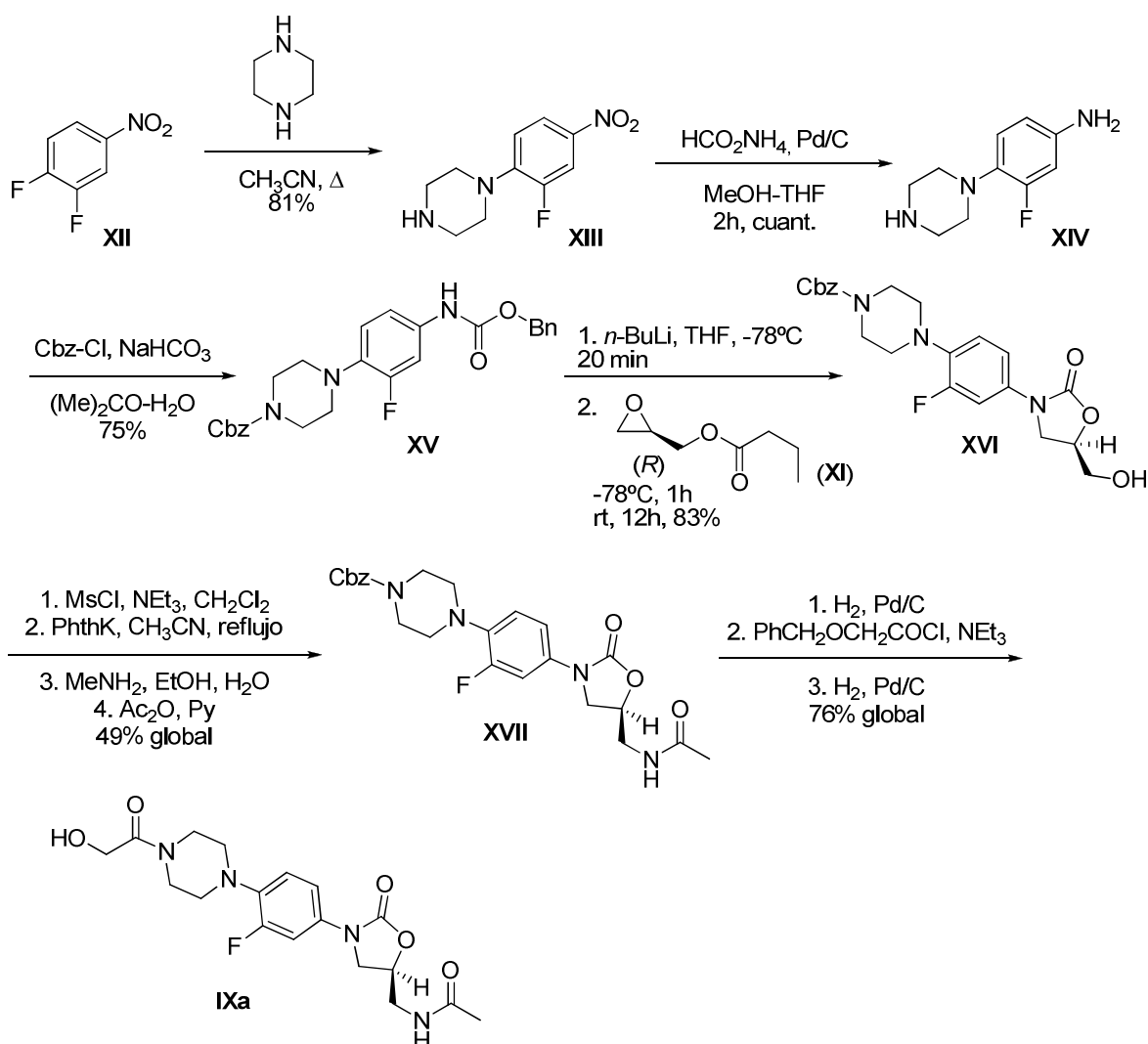
La síntesis asimétrica llevada a cabo en la compañía Du Pont para la preparación del compuesto DuP-721 (**IV**)¹³ se ha realizado mediante el procedimiento de Herweh-Kauffmann,¹⁴ que prevé la ciclación a alta temperatura de un isocianato aromático (**X**) y un epóxido ópticamente activo (**XI**) en presencia de bromuro de litio como catalizador y óxido de tributilfosfina para solubilizar la sal en medio orgánico. La reacción procede con altos rendimientos (82%) aunque el factor limitante para su uso extensivo es la alta temperatura requerida (150°C), que puede ocasionar problemas a la hora de introducir a nivel del anillo aromático sustituyentes termolábiles.



Esquema 1.2. Síntesis de oxazolidin-2-onas *via* ciclación de isocianatos.

A la vista de estos inconvenientes, los investigadores de Pharmacia han desarrollado una metodología alternativa que se representa en el Esquema 1.3 para la síntesis del eperezólido (**IXa**).⁵ La reacción de desplazamiento nucleofílico aromático sobre el 3,4-difluoronitrobenzo (**XII**) con un exceso de piperazina proporciona de manera regioselectiva el nitrobenzo *para*-sustituido **XIII**. La siguiente reducción del grupo nitro, la inserción de un grupo carbobenciloxi (Cbz), y la protección del nitrógeno secundario de la piperazina, proporcionan un derivado de tipo carbámico de la anilina (**XV**), que tras desprotonación a baja temperatura con *n*-BuLi y tratamiento con butirato de (*R*)-glicidilo (**XI**) permite obtener directamente el anillo heterocíclico **XVI** con un rendimiento superior al 80% y un elevado exceso enantiomérico (96-

98%). Posteriormente, mediante una química convencional se funcionaliza la cadena exocíclica, obteniéndose el antibacteriano requerido **IXa**.

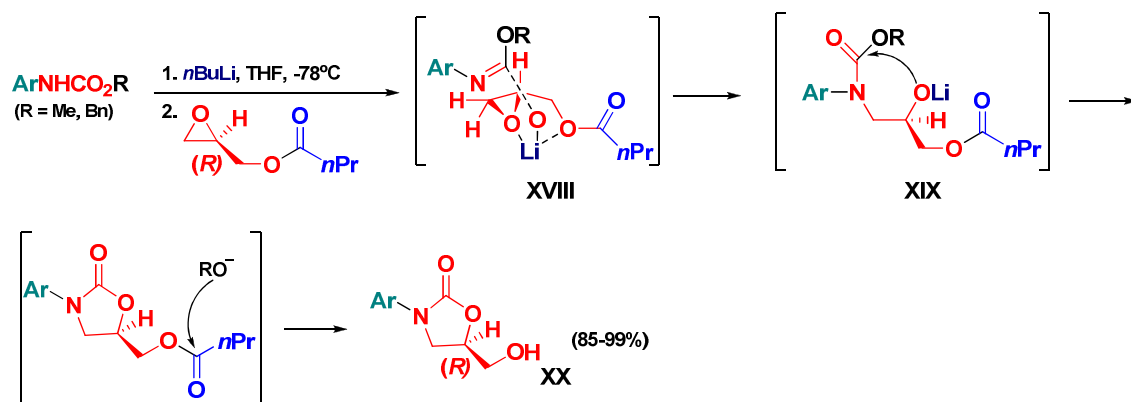


Esquema 1.3. Síntesis del eperezólido de Pharmacia.⁵

Tal y como se puede ver, el paso fundamental del proceso sintético es la ciclación de la anilina *N*-Cbz protegida **XV**, mediante desprotonación del carbamato con butillitio, seguida por la alquilación estereoselectiva con butirato de (*R*)-glicidilo (**XI**). Los intentos de llevar a cabo la reacción con bases distintas como NaH o KH no condujeron a resultados satisfactorios. Hoy día a esta reacción se le conoce como la reacción de Manninen⁷ y el mecanismo mediante el cual procede es conocido. (Esquema 1.4)

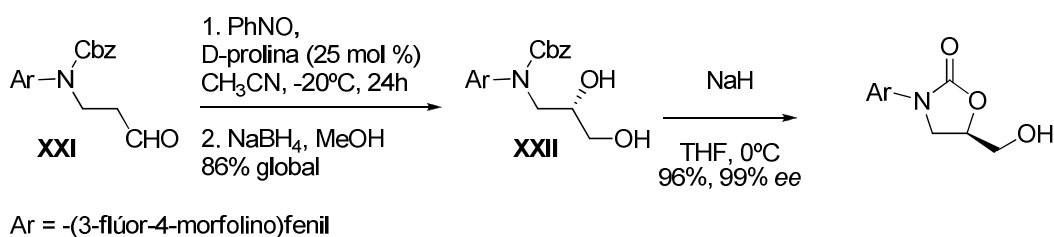
En primer lugar es de destacar el papel crítico jugado por el catión litio, el cual, parece promover tanto la apertura del epóxido a baja temperatura por parte del nitrógeno del carbamato, como el ataque altamente regioselectivo al metileno del epóxido. Estudios mecanísticos efectuados por Manninen atribuyen a la capacidad del catión litio del carbamato su carácter de ácido de Lewis mediante una coordinación polidentada, que incluye el oxígeno del epóxido y el oxígeno de la cadena butírica, tipo el intermedio **XVIII**. Resulta llamativo el hecho

por el cual el alcóxido del carbamato, que es grupo saliente de la reacción de ciclación entre el alcóxido de litio y el carbono carbonílico del carbamato (**XIX**), una vez liberado al medio de reacción lleva a cabo una transesterificación con obtención directa de la 5-(*R*)-hidroximetiloxazolidin-2-ona (**XX**).



Esquema 1.4. Mecanismo de formación estereoselectiva del anillo oxazolidin-2-ónico a partir de una anilina *N*-Cbz protegida y *n*-BuLi.

Debido al gran interés suscitado por las oxazolidin-2-onas en Química Farmacéutica, en los últimos años se han publicado alternativas¹¹ a la clásica síntesis del linezólido propuesta por Manninen, las cuales se diferencian de la original por el empleo de sintones distintos de los epóxidos en la reacción de ciclación, tal y como es el caso del (*S*)-3-cloropropan-1,2-diol empleado en la síntesis industrial del linezólido.¹⁵ Por ejemplo, Sudulai y Narina¹⁶ han descrito una síntesis enantioselectiva del linezólido y del eperezólido basada en la hidroxilación asimétrica en posición α respecto al grupo amino en 3-amino propionaldehidos (**XXI**) catalizada por *D*-prolina, obteniendo rendimientos globales del 56% y del 39% respectivamente. (Esquema 1.5)

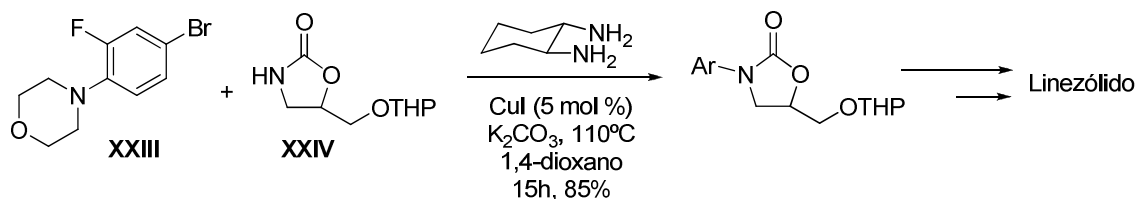


Esquema 1.5. Ciclación de un β -aminoalcohol *N*-Cbz protegido en presencia de NaH.

Este último ejemplo llama a la atención también por la peculiar reacción de ciclación llevada a cabo mediante simple tratamiento del β -aminoalcohol *N*-Cbz protegido **XXII** con NaH a 0°C: en efecto, este protocolo se basa en un trabajo previo descrito por Naito y cols.¹⁰ en el que evidentemente el alcóxido generado reacciona selectivamente con el carbono carbonílico del carbamato, debido a sus características congruentes (nucleófilo y electrófilo duros).

Un protocolo basado en una química distinta es el acoplamiento tipo Buchwald catalizada por CuI entre un bromuro arílico (**XXIII**) y una oxazolidinona (**XXIV**) descrito por Trehan y cols.¹⁷

A pesar de los buenos resultados obtenidos por estos autores, no se conocen aplicaciones a la síntesis estereoselectiva de estas oxazolidinonas. (Esquema 1.6)



Esquema 1.6. Protocolo tipo Buchwald-Hartwig para la preparación de *N*-ariloxazolidin-2-onas.

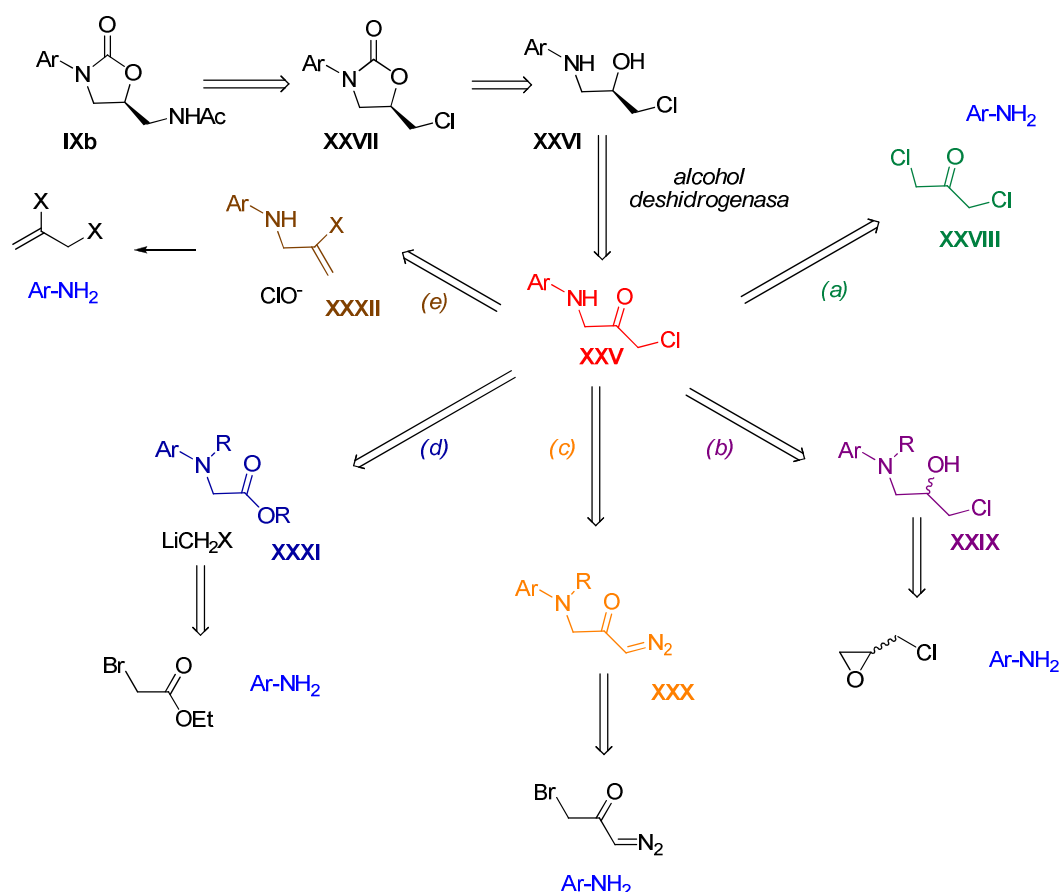
1.4. Planteamiento de una síntesis quimioenzimática

Una posibilidad no explorada de síntesis consistiría en el empleo de un paso enzimático para introducir la quiralidad, mediante el uso de una alcohol deshidrogenasa. La ventaja que en línea teórica presenta esta metodología planteada es la introducción de la quiralidad requerida para la actividad biológica a partir de un precursor aquiral identificado, concretamente la 3-arilamino-1-cloropropan-2-ona (**XXV**). (Esquema 1.7)

En efecto, un esquema retrosintético tal y como el que se muestra en el Esquema 1.7, permitiría el uso de una reducción enantiofacial de la 1-arilamino-3-cloro-2-propanona **XXV** (molécula que ha sido sintetizada a través de diferentes vías en esta Memoria) para obtener el sintón quiral deseado, el (*R*)-1-arilamino-3-cloro-2-propanol, **XXVI**. Posteriormente, la ciclación formal del β-aminoalcohol enantiopuro, nos llevaría a **XXVII**, y una simple sustitución del cloro por un grupo acetamido conduciría a la estructura deseada **IXb**.

Para ello, se han diseñado cinco distintas estrategias para la obtención de compuestos tipo **XXV** y que se reseñan brevemente a continuación:

- Monosustitución de la 1,3-dicloroacetona **XXVIII** mediante una amina aromática;
- Oxidación del β-aminoalcohol **XXIX**, obtenido por apertura de una epiclorohidrina con una amina aromática, eventualmente protegida.
- Empleo de reacciones tipo Arndt-Eistert para la homologación de un derivado de ácido carboxílico **XXX**, a la correspondiente α-diazocetona y posterior acidólisis.
- Uso de reacciones de homologación de ésteres **XXXI** mediante carbenóides de litio.
- Hidrólisis oxidativa de haluros de vinilo tipo **XXXII** mediante hipocloritos.



Esquema 1.7. Esquema retrosintético basado en la preparación de 3-amilamino-1-cloropropan-2-onas para la obtención de oxazolidin-2-onas antibacterianas.

1.5. α -amino- α' -halometilcetonas en Síntesis Orgánica.

Tal y como se ha mostrado en el Esquema 1.7 es claro que el paso limitante de la ruta sintética propuesta es la preparación de estructuras tipo **XXV**. Sin embargo, tras una exhaustiva búsqueda bibliográfica no se ha podido recabar información alguna acerca de su síntesis. Este hecho es llamativo, puesto que estructuras análogas que presentan un sustituyente de tipo alifático a nivel del átomo de nitrógeno han sido objeto de numerosos estudios sintéticos.^{18,19} (Figura 1.4)

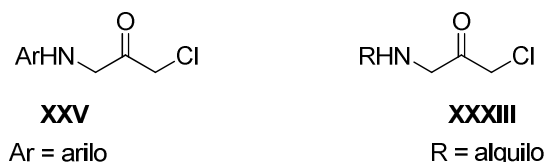


Figura 1.4. α -amino- α' -halometilcetonas con *N* sustituyentes de tipo arílico (no conocidas) y alifático (conocidas).

El interés suscitado por moléculas tipo **XXXIII** se debe a su utilidad sintética para la preparación de halohidrin y epóxidos quirales, que a su vez, constituyen intermedios clave en

las síntesis de distintas estructuras de interés farmacéutico como por ejemplo los inhibidores tanto de las proteasas VIH tipo Amprenavir (**XXXIVa**), Nelfinavir (**XXXIVb**) ó Saquinavir, (**XXXV**).^{19,20} (Figura 1.5)

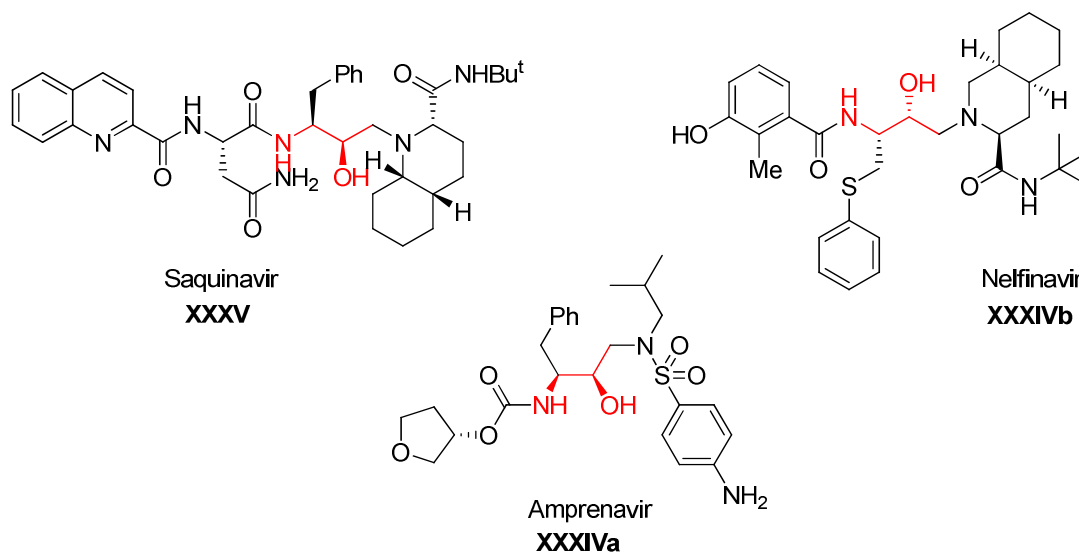
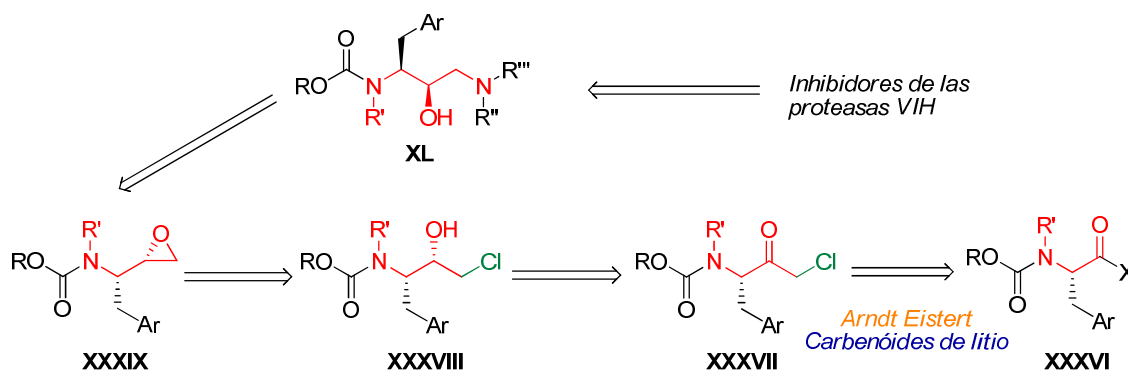


Figura 1.5. Ejemplos de inhibidores de proteasas de VIH derivados de α -aminoalquil- α' -halometilcetonas.

De hecho, tal y como se muestra en el esquema retrosintético su síntesis (Esquema 1.8) se lleva a cabo a partir de α -halocetonas tipo **XXXVII**, preparadas mediante reacciones de homologación de derivados de ácidos carboxílicos **XXXVI**. Normalmente para este tipo de homologaciones se emplean procesos tipo Arndt-Eistert o carbenóides de litio.¹⁹ Posteriormente, las α -clorocetonas así sintetizadas se reducen de manera diastereoselectiva a los correspondientes alcoholes **XXXVIII**, a partir de los cuales se forman los epóxidos **XXXIX** que, finalmente por apertura de los mismos con las correspondientes aminas conducen a los precursores directos de las moléculas activas tipo **XL**.

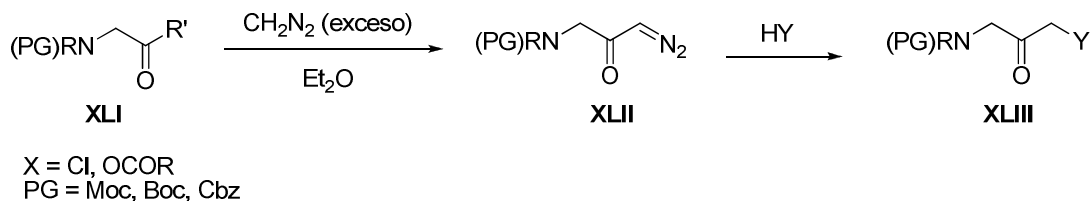


Esquema 1.8. Retrosíntesis de inhibidores de las proteasas de VIH.

1.5.1. Preparación de α -amino- α' -halometilcetonas *via* reacciones Arndt-Eistert.²¹

Revisando la bibliografía,¹⁸ la primera metodología sintética aplicada para la preparación de dichas estructuras, resulta ser el tratamiento de un derivado carboxílico activado tipo **XLI**

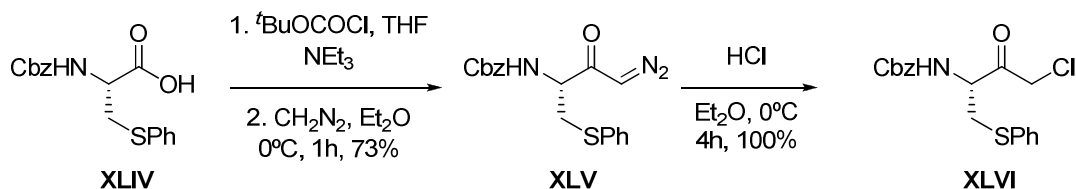
(anhídrido o cloruro de ácido) con diazometano, obteniéndose la α -diazocetona intermedia **XLII**. Dicho intermedio en presencia de HCl anhidro o HBr acuoso (48%) conduce a la formación, con altos rendimientos, de la halometilcetona **XLIII**; es importante destacar la ausencia de procesos de racemización observada, empleando en esta ruta sintética sustratos quirales. (Esquema 1.9).



Esquema 1.9. Reacción de Arndt-Eistert para la preparación de α -halocetonas.

Sin embargo, esta metodología tiene una aplicación limitada en el ámbito industrial, siendo principalmente empleada en procesos a pequeña escala. Efectivamente, el uso de diazometano a gran escala resulta ser poco atractivo dado su difícil manejo a la vista de su elevado potencial explosivo. De hecho, este reactivo, sólo y únicamente se puede preparar al momento de la reacción y al ser gaseoso (bp -23°C) se emplea en solución etérea siendo además difícil su valoración. A todo esto hay que añadir su altísimo potencial cancerígeno.²² A pesar de estas consideraciones que aconsejan su uso limitado, T. G. Archibald de la compañía Aerojet Fine Chemicals ha publicado recientemente una revisión titulada “Large-scale use of diazomethane in pharmaceutical production”.²³ En este trabajo se matiza que el reactivo en cuestión, si se maneja adecuadamente, resulta ser útil, seguro y de bajo coste, puesto que a pesar del uso masivo que se hace en la compañía (7 toneladas diazometano/ mes) nunca se han producido accidentes. Por otro lado y desde un punto de vista histórico, la síntesis de Arndt-Eistert de las diazocetonas y su posterior transformación en los derivados halometilénicos representa la ruta sintética más directa para la obtención de dichas cetonas.

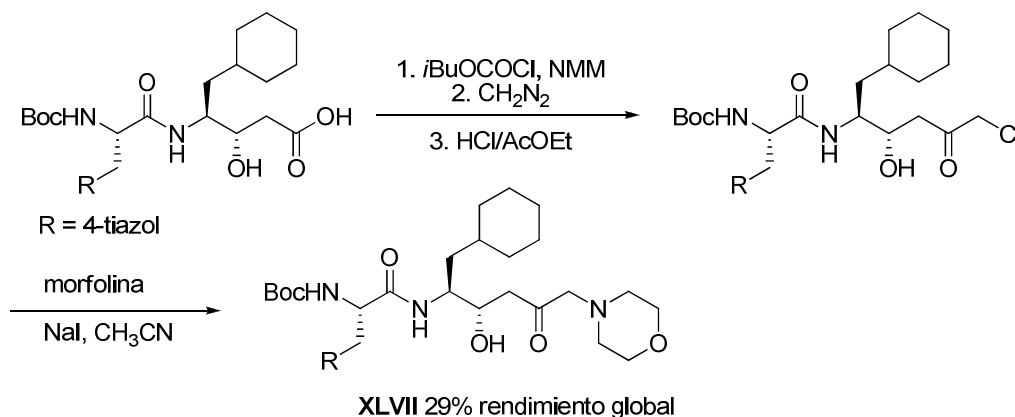
Kaldor y cols.²⁴ emplearon este protocolo en una de las primeras rutas sintéticas para la preparación del Nelfinavir **XXXIVb** (Viracept®): El primer paso consistió, en la formación del anhídrido mixto por reacción de un peptidomimético *N*-Cbz protegido **XLIV**, con cloroformiato de isobutilo en presencia de trietilamina y posterior reacción con exceso de diazometano para proporcionar la diazocetona. Tal y como se ha comentado, la presente técnica no encuentra aplicación en la síntesis industrial. (Esquema 1.10)



Esquema 1.10. Síntesis del intermedio **XLVI** en la síntesis a pequeña escala del Nelfinavir **XXXIVb**.

La obtención de α -cloro o bromocetonas a través de esta metodología constituye el paso previo para la posterior sustitución nucleofílica de dichos halógenos por otros grupos funcionales tales

como aminas o halógenos tipo iodo ó flúor. En particular, en procesos a pequeña escala se recurre a la sustitución *in situ* cloro-iodo (empleando yoduro en cantidad catalítica) para facilitar el ataque nucleofílico de aminas tipo morfolina sobre α -iodoacetona la más reactiva. El uso de esta técnica ha permitido llevar a cabo la síntesis de peptidomiméticos (**XLVII**) que presentan una función alcohólica, en los que, debido a la suavidad de las condiciones empleadas, no se ha requerido el uso de grupos protectores de hidroxilo para mantener la pureza óptica.¹⁸



Esquema 1.11. Empleo de α -aminoalquil- α' -haloacetonas en reacción de desplazamiento nucleofílico.

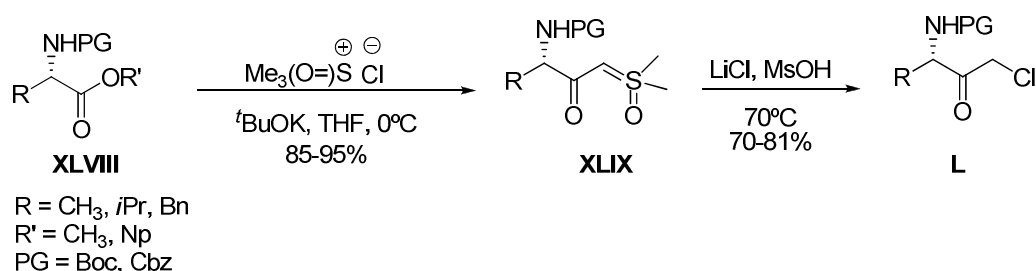
Con respecto a la preparación a gran escala de α -halometilcetonas derivadas de aminoácidos, la búsqueda de metodologías más rentables desde un punto de vista de manejabilidad ha sido dificultosa. A pesar de la indudable utilidad sintética del diazometano, no se puede ignorar la peligrosidad que conlleva su uso en escala piloto.

1.5.2. Preparación de α -amino- α' -halometilcetonas mediante la homologación de ésteres con metililuro de dimetilsulfoxonio (reactivo de Corey-Chaykovsky²⁵).

A la vista de estas consideraciones, Nugent y cols.²⁶ han elaborado un protocolo para la preparación de α -aminoalquil- α' -clorometilcetonas a partir de ésteres de aminoácidos empleando el metililuro de dimetilsulfoxonio. Los mismos autores califican su metodología como una alternativa más segura al uso de diazometano o carbenóides de litio.

El protocolo prevé la preparación *in situ* del iluro de azufre a partir de cloruro de trimetilsulfoxonio y *tert*-butóxido potásico en THF a reflujo durante dos horas. Posteriormente este reactivo se añade a la disolución en THF del éster de aminoácido tipo **XLVIII**, obteniéndose el iluro correspondiente **XLIX** con altos rendimientos. (Esquema 1.12) Es interesante notar que el proceso normalmente no conlleva pérdida significativa de pureza óptica si se emplea el éster 4-nitrofenílico (Np). El siguiente tratamiento con ácido clorhídrico preparado *in situ* a partir de LiCl y ácido metanosulfónico (MsOH) da lugar a la formación de la deseada función clorocarbonílica tipo **L**. Es interesante subrayar que el uso de ácido clorhídrico

como tal o preparado a partir de cloruro de tetrabutilamonio y MsOH facilita la ruptura del enlace azufre-metilo.

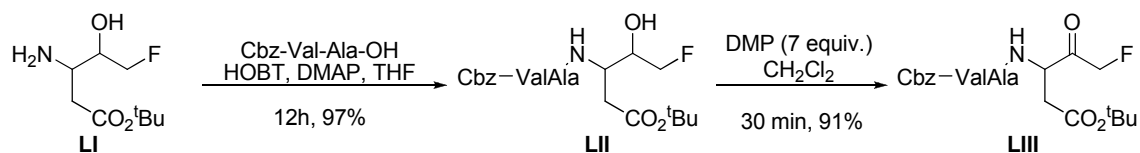


Esquema 1.12. Obtención de α -aminoalquil- α' -clorocetonas mediante el uso del reactivo de Corey-Chaykovsky.

1.5.3. Preparación de α -amino- α' -halometilcetonas mediante oxidación de las correspondientes halohidrininas.

A pesar de la simplicidad formal de la reacción de oxidación de un alcohol al correspondiente compuesto carbonílico, con nuestra sorpresa comprobamos como esta metodología ha sido empleada sólo marginalmente para la obtención de compuestos similares a los estudiados en esta Tesis. Evidentemente, tanto la incompatibilidad química entre agentes oxidantes y el par de electrones de la amina,²⁷ como la posible formación de enlaces de hidrógeno intra y/o intermoleculares desaconsejan este tipo de protocolo sintético.

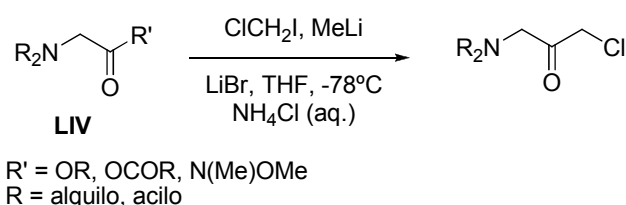
Sin embargo, la síntesis de las α -fluorocetonas ha sido realizada de manera satisfactoria basándose en la oxidación de la fluorohidrina correspondiente con el periodinano de Dess-Martin.²⁸ De esa manera se ha preparado un potente inhibidor de la enzima de conversión de la interleuquina-1 β con potencial actividad antiinflamatoria y anti-Alzheimer,²⁹ así como una alternativa para la síntesis de dipeptidil-aspartil-fluorometilcetona tipo **LIII**, inhibidores de la caspasa-3.³⁰ El paso clave de estas síntesis implica la oxidación de Dess-Martin²⁸ de la fluorohidrina *N*-Cbz protegida **LII** que presenta en la posición α' una función amídica: Es de destacar, que la oxidación del alcohol se efectúa sobre la amida **LII** y no sobre la amina precursora **L**.



Esquema 1.13. Oxidación de aminohalohidrininas mediante el periodinano de Dess-Martin.

1.5.4. Preparación de α -aminoalquil- α' -halometilcetonas mediante carbenóides de litio.

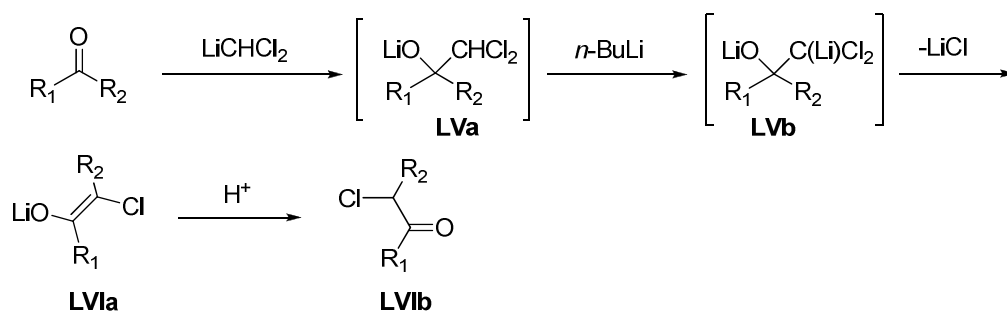
El método más frecuente para la síntesis de nuestras moléculas diana a escala piloto o a nivel industrial se basa en la reacción de un derivado de aminoácido activado (éster, anhídrido o amida de Weinreb³¹) tipo **LIV** con un reactivo tipo halometilitio a baja temperatura.¹⁸ (Esquema 1.14)



Esquema 1.14. Homologación de un derivado de ácido carboxílico a α -clorocetona mediante un carbenóide de litio generado *in situ*.

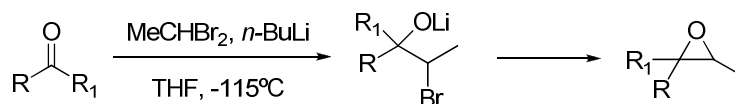
1.5.4.1. Preparación y Reactividad de los carbenóides de litio.

Uno de los primeros ejemplos del uso de carbenóides de litio en reacciones con compuestos carbonílicos se deba a Taguchi y colaboradores³² que efectuaron un estudio sobre la aplicación del diclorometililitio en reacciones con compuestos carbonílicos tipo cetonas. En particular, estos autores señalaron que la adición de este compuesto organometálico al sistema carbonílico procede rápidamente a temperaturas alrededor de los -95°C con obtención de una estructura tipo diclorometilalcóxido de litio (**LVa**) que, por tratamiento con una base fuerte, como el *n*-BuLi, origina un intermedio dilitiado tipo β -óxido carbenóide (**LVb**) que se descompone en el enolato **LVla** que, en medio ácido origina la α -clorocetona **LVlb**. (Esquema 1.15)



Esquema 1.15. Homologación de un compuesto carbonílico mediante diclorometililitio.

Posteriormente, Villieras y cols.³³ continuaron los estudios concernientes al empleo del carbenóide halometililitio (LiCH_2X) en reacciones con compuestos carbonílicos. En particular, según estos autores, la formación de la especie α -monohaloalquililitio era efectiva trabajando exclusivamente a una temperatura inferior a -115°C en presencia de bromuro de litio. Sin embargo, el estricto control de la temperatura que, para favorecer la formación de los carbenóides debería de estar alrededor de -115°C , ha suscitado un cierto debate en la comunidad científica. Kowalski y Reddy³⁴ consideran que la falta de calibración de los termómetros para reacciones a baja temperatura puede ser la causa para que comúnmente se cree que se requiere tan baja temperatura. De hecho, calibrando de manera adecuada los termómetros mediante su inmersión en un baño de dióxido de carbono y acetona (que efectivamente garantiza que la temperatura sea de -78°C) se puede concluir que las reacciones en las que se precisa la formación de un carbenóide pueden llevarse a cabo con éxito a dicha temperatura. Efectivamente, los antecedentes bibliográficos de la formación de dichas especies a bajas temperatura resultaron infructuosos debido a la inestabilidad de los carbenóides. Por eso, Cainelli y cols.,³⁵ para demostrar que efectivamente se forma este tipo de intermediarios *via* intercambio halógeno-litio formaron *in situ* el carbenóide a partir de un dibromoalcano y *n*-butillitio en presencia de un electrófilo, como por ejemplo una cetona. (Esquema 1.16)



Esquema 1.16. Demostración de la formación de un carbenóide de litio a partir de un dihalometano.

La inestabilidad de dichos carbenóides se puede explicar teniendo en cuenta su carácter electrofílico, como demuestran las estructuras canónicas de resonancia representadas en la Figura 1.6.

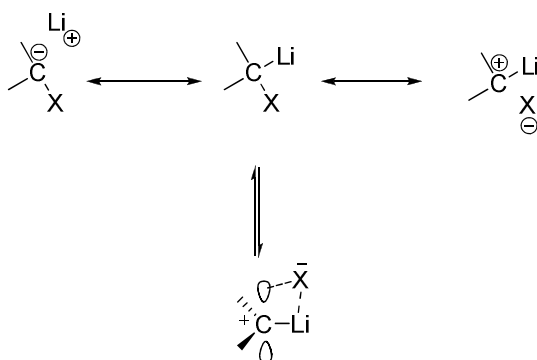


Figura 1.6. Estructuras de resonancia de los carbenóides.

Una característica peculiar de los carbenóides de litio es la elongación del enlace carbono-halógeno que aumenta el carácter *p* de este enlace, favoreciendo de esta manera la polarización del mismo, incrementándose también el carácter *s* del enlace carbono-litio. Empleando el concepto de ionización parcial asistida por un metal (MAI),³⁶ es posible demostrar el carácter electrofílico de los carbenóides, basándose en la coordinación intramolecular entre el metal (litio) y el halógeno, de tal manera que la especie carbenóide va adquiriendo progresivamente

las características de un carbocatión. Evidentemente, la eliminación o la reducción de esta coordinación conllevaría la estabilización del carbenóide, tal y como sucede en el caso de dihalo o trihalocarbenóides en presencia de disolventes que actúan como bases de Lewis (THF o HMPA), resultando un aumento de la nucleofilia del carbenóide.³⁷(Figura 1.7)

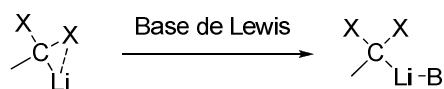


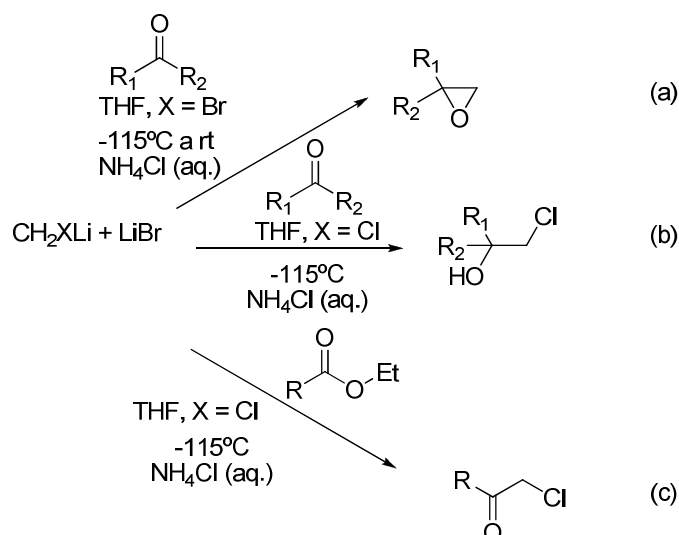
Figura 1.7. Estabilización de los carbenóides de polihalolito mediante una base de Lewis.

Sin embargo, el uso de HMPA para la estabilización de reactivos de α -monohaloalquillitio no resulta útil, obteniéndose fundamentalmente reacciones de α -eliminación. En estos casos, se logra estabilizar el carbenóide recurriendo a la adición de una sal de litio (LiBr) que actúa como ácido de Lewis coordinando un par de electrones del halógeno. Villieras³³ subraya la ineficacia del litio contenido en las disoluciones comercialmente disponibles de reactivos de alquillitio para promover la arriba mencionada estabilización, con lo cual se precisa la adición de bromuro de litio como tal. (Figura 1.8)



Figura 1.8. Estabilización de los carbenóides de monohalo alquillitio mediante adición de LiBr.

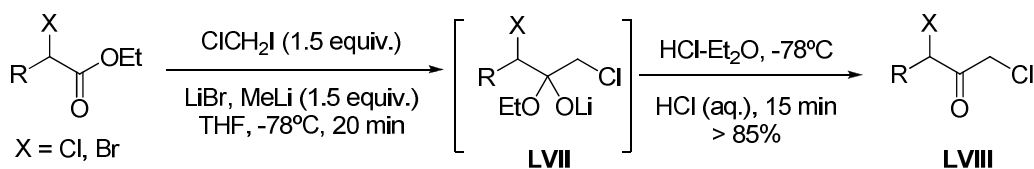
Villieras³³ estudió por primera vez la utilización de estos reactivos de alquillitio formados *in situ* así como la primera aplicación de los mismos en reacciones con compuestos carbonílicos, pudiéndose seguir tres caminos distintos de reacción en función de la naturaleza del grupo carbonílico: Si el carbenóide presenta un buen grupo saliente (Br) y la temperatura es alta (desde -115°C hasta rt) se observa una β -eliminación intramolecular con consiguiente formación de un oxirano [vía (a)]; Sin embargo, en el caso del clorometillitio en condiciones de baja temperatura (-115°C) no se observa la β -eliminación, obteniéndose la clorohidrina correspondiente [vía (b)]. Por último, en presencia de un éster se observa un mecanismo de adición-eliminación con la consiguiente obtención de α -halocetonas [vía (c)]. (Esquema 1.17)



Esquema 1.17. Reactividad de diferentes carbonilos con carbenóides de litio.

1.5.4.2. Aplicación de la reacción de homologación de derivados de ácidos carboxílicos con carbenóides de litio para la síntesis de α -aminoalquil- α' -halocetonas.

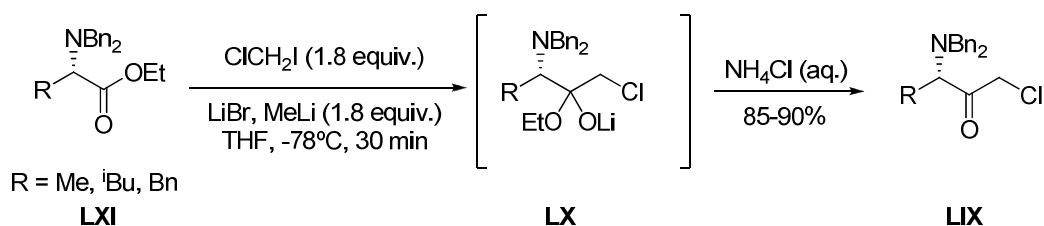
Basándose en estas consideraciones, el grupo de Barluenga ha extendido el uso de esta metodología a la síntesis de diferentes α -halo, α,α - y α,α' -dihalocetonas **LVII**^{38,39} Es interesante subrayar que, de acuerdo con estos autores, la formación del carbenóide haloalquililitio se ha podido realizar a temperaturas menos drásticas (-78°C)^{40,41} de las empleadas por Villieras,³ tal y como se muestra en el Esquema 1.18.³³



Esquema 1.18. Síntesis de α,α - y α,α' -dihalocetonas propuesta por Barluenga y cols..^{38,39}

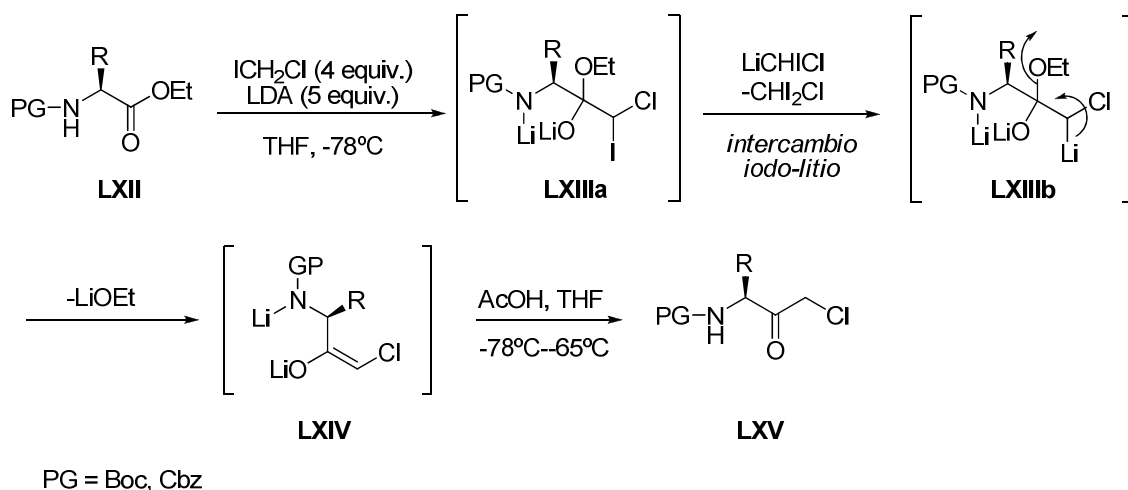
Es de destacar la estabilidad del intermediario **LVII** en las condiciones de reacción debido a la electronegatividad del halógeno y del oxígeno, que inhiben la eliminación del grupo etoxilo⁴² y que como consecuencia, impiden la adición de dos moléculas de clorometililitio. La eficiencia de la reacción de clorometilación, resulta ser dependiente de nuevo de la adición de LiBr, puesto que en su ausencia los rendimientos se reducen de manera considerable. Asimismo, resulta imprescindible no prolongar el tiempo de reacción por encima de los 30 min para evitar reacciones de deshalogenación. Una vez optimizadas las condiciones de reacción, el mismo grupo de Barluenga llevó a cabo la primera síntesis de estructuras tipo α -cloro- α' -alquilaminometilcetonas **LIX** partiendo de un derivado protegido de la *N,N*-dibencilalanina **LX**.⁴³ (Esquema 1.19) Es interesante remarcar que los resultados mejores se obtuvieron empleando un éster etílico **LXI**, mientras la reacción llevada a cabo con un éster bencílico

conlleva la formación de productos secundarios, reduciendo el potencial sintético de la reacción.²⁰



Esquema 1.19. Homologación de un éster a la correspondiente α -clorometilcetona.

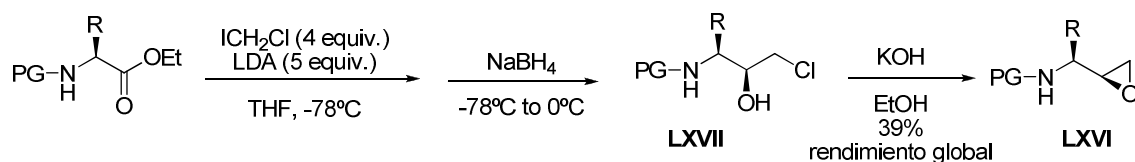
Posteriormente, un estudio de Polniaszek y cols.⁴⁴ de la compañía Bristol-Myers-Squibb permitió extender este tipo de homologaciones, de ésteres a α -halometilketonas, a procesos a gran escala. Estos autores emplearon 5 equivalentes de base (LDA), de los cuales el primero sirvió para deprotonar el carbamato **LXII** y los restantes cuatro para la generación del carbenóide de litio (LiCHCl) a partir del cloroiodometano. El mecanismo propuesto por estos autores resulta llamativo, pues proponen que el segundo equivalente de carbenóide sirve para una reacción de intercambio iodo-litio, con la consiguiente eliminación de LiOEt de la que se origina el enolato **LXIV**, el cual en condiciones ácidas proporciona la α -clorometilcetona **LXV**, tal y como se muestra en el Esquema 1.20. Este mecanismo permite evitar fenómenos de racemización, debido a la desprotonación inicial del carbamato (con consiguiente formación del dianion) que impide la enolización en la posición contigua al éster.⁴⁵



Esquema 1.20. Síntesis de α -amino- α' -clorometilketonas a partir de α -aminoésteres que presentan una función N-H.

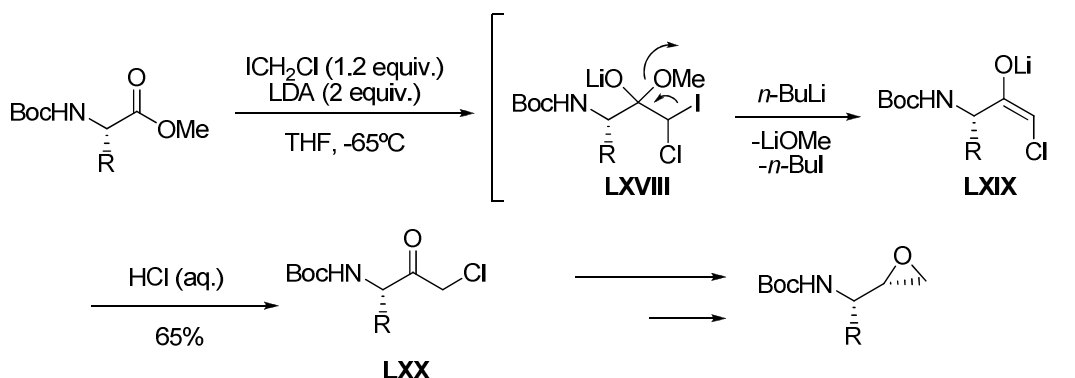
Sin embargo, el protocolo en cuestión prevé la formación del arriba mencionado clorodiodometano, el cual, al tener un alto punto de ebullición, origina serios problemas a la hora de purificar los productos. Los mismos autores, puesto que consideraban la α -clorocetona un intermedio necesario para la síntesis de *eritro* aminoepóxidos **LXVI**, simplificaron el procedimiento reduciendo *in situ* la α -clorocetona (sin aislarla), eliminando al mismo tiempo el trihalometano. Digna de destacar es la diastereoselectividad global del proceso (4:1).

Finalmente, la síntesis del epóxido con la estereoquímica deseada se obtuvo mediante tratamiento básico de la clorhidrina **LXVII**. (Esquema 1.21)



Esquema 1.21. Síntesis de *eritro* amino epóxidos sin aislar la α -clorocetona.

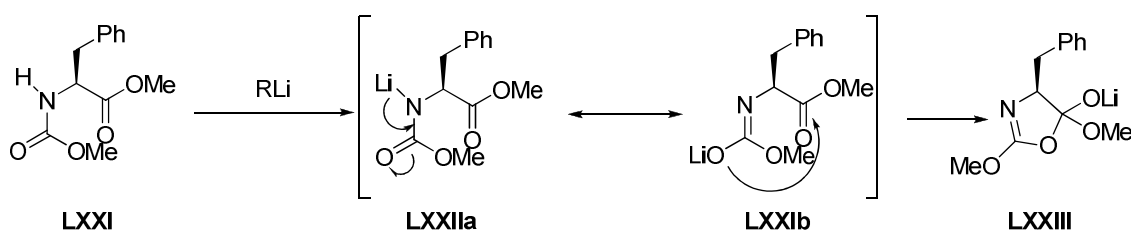
De manera análoga, Reeder, de la compañía Pfizer, a fin de evitar la formación del clorodiodometano, muy tóxico, empleó 2 equivalentes de LDA y 1.2 equivalentes de cloriodometano de tal manera que el intermedio tetraédrico **LXVIII** no pudiese reaccionar con el exceso de carbenóide de litio; posteriormente, añadiendo *n*-BuLi, obtuvieron el intercambio rápido iodo-litio con la consiguiente eliminación del yoduro de butilo (más volátil) y posterior obtención del enolato **LXIX**, el cual, que por acidificación proporcionó la α -clorometilcetona **LXX** precursora del epóxido asimétrico.⁴⁶ De acuerdo con este autor, el rendimiento global del proceso se incrementó con respecto al protocolo de Polniaszek.⁴⁴ (Esquema 1.22)



Esquema 1.22. Modificación propuesta por Reeder⁴⁶ para evitar la formación de CHI_2Cl .

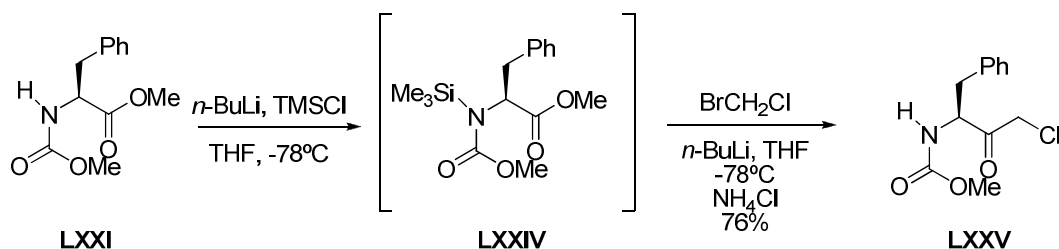
En otro orden de cosas, la posibilidad de efectuar la reacción de clorometilación de un éster en presencia de un carbamato con el hidrógeno amídico protegido ha sido objeto de controversias en la Bibliografía.

Hilpert y cols.⁴⁷ de la compañía Hoffmann-La Roche postularon que la presencia de ese hidrógeno puede ocasionar la desactivación de la función éster debido a la probable formación de un hemiorto éster cíclico. (Esquema 1.23)



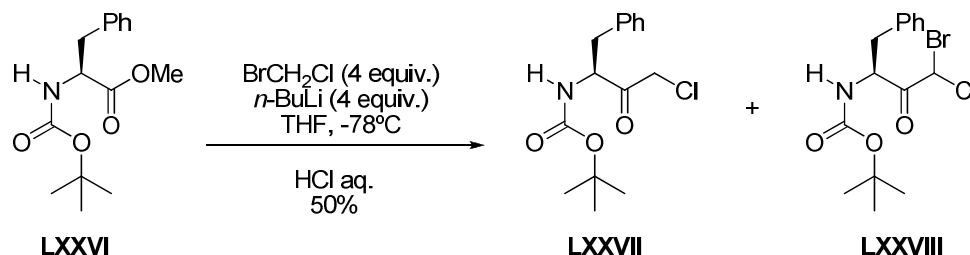
Esquema 1.23. Imposibilidad de llevar a cabo reacciones de clorometilación de α -aminoésteres que presentan una función N-H según Hilpert y cols.⁴⁷

Por tanto, para evitar la desactivación se recurrió a una protección *in situ* del carbamato **LXXI** con TMS y posteriormente se realizó la clorometilación de acuerdo con las clásicas condiciones empleadas.⁴⁷ Puesto que las funciones *N*-TMS son muy inestables en medio acuoso,^{48,49} la desprotección correspondiente se lleva a cabo en condiciones “*one-pot*” a la hora de tratar con cloruro amónico el intermedio de reacción **LXXIV**. (Esquema 1.24) Este procedimiento de protección-desprotección *in situ* permite maximizar los rendimientos comparativamente respecto a la reacción llevada a cabo sin el empleo del grupo TMS como grupo protector.



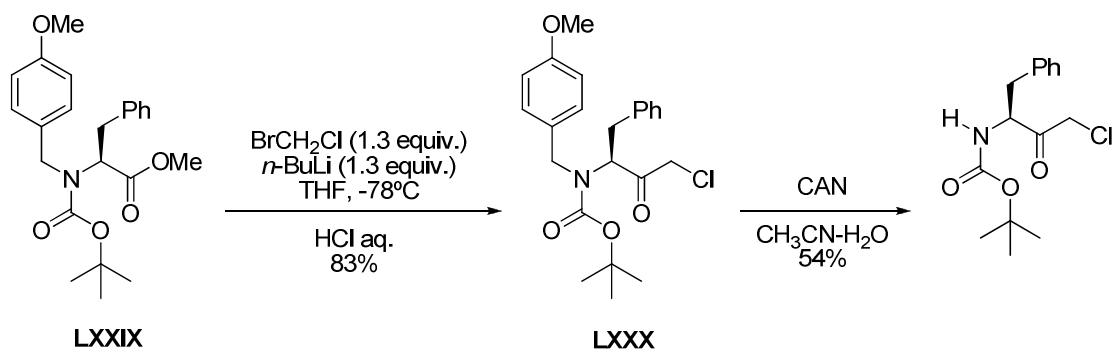
Esquema 1.24. Estrategia “*one pot*” de protección y eliminación del grupo *N*-TMS *in situ*.

Por otra parte, Izawa *y cols.*,¹⁹ al intentar la reacción de clorometilación sobre un carbamato (**LXXVI**) donde esté presente la función *N*-H, empleando un exceso (4 equiv.) de bromoclorometano y *n*-BuLi, (Esquema 1.25) confirmaron la importancia del uso de grupos protectores de nitrógeno para llevar a cabo la reacción con altos rendimientos; en efecto, en su ausencia, el rendimiento llegó a un 50% y conjuntamente al producto deseado, **LXXVII**, debido al uso de carbenóide de litio, se aisló la bromoclorometilcetona **LXXVIII** como subproducto.



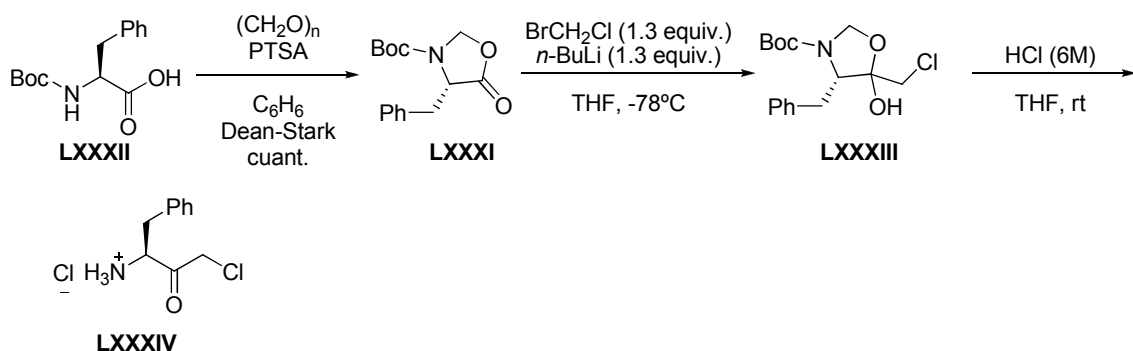
Esquema 1.25. Formación de subproductos en la reacción de clorometilación observada en presencia de un α -aminoéster que presenta un grupo NH.

En este mismo grupo, el planteamiento del requisito de la necesidad de la protección de la función NH del carbamato ha constituido un tema de investigación bastante activo; de hecho, el uso del grupo protector *p*-metoxibencilo (PMB) permitió llevar a cabo la homologación del compuesto **LXXIX** con un rendimiento del 83%. (Esquema 1.26) Desafortunadamente, el inconveniente relacionado al uso de dicho grupo protector es la dificultad encontrada para su eliminación del compuesto **LXXX** con nitrato cérico (IV) amónico (CAN), lo que reduce el rendimiento global de la reacción a un 54%.



Esquema 1.26. Reacción de homologación efectuada sobre un α -aminoéster *N*-PMB protegido y su posterior eliminación mediante tratamiento con CAN.

Con motivo de evitar pérdidas de productos ocasionadas por el uso de grupos protectores de difícil eliminación, sin duda una interesante alternativa implica el uso de sistemas oxazolidinónicos **LXXXI** preparados con rendimientos prácticamente cuantitativos a partir del aminoácido *N*-Boc protegido **LXXXII** y paraformaldehído en presencia de ácido tosílico.⁵⁰ (Esquema 1.27) La función lactónica **LXXXI** actúa como el punto de ataque del carbenóide de litio, de tal manera que se origina cuantitativamente un intermedio estable y aislable **LXXXIII** que, tras hidrólisis ácida, se convierte directamente en la clorocetona **LXXXIV** con buenos rendimientos (64%). Es digno de mención el hecho que la hidrólisis ácida desprotege simultáneamente el grupo Boc, por lo cual el resultado final es la obtención del hidrocloreto de la aminocetona deseada. Sin embargo, el uso de grupos protectores resistentes a condiciones ácidas (*e.g.* Cbz) permite el aislamiento del correspondiente derivado *N*-protegido.



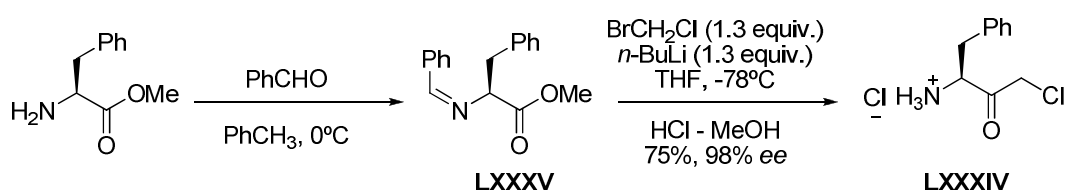
Esquema 1.27. Reacción de homologación mediante uso de un grupo protector de tipo oxazolidin-5-ónico.

De acuerdo con los estudios del grupo de Izawa,^{51,52} que parecen contradecir los resultados arriba comentados, la presencia de un grupo protector que evite la presencia de una función NH libre, parece ser requisito indispensable para poder llevar a cabo dichas transformaciones de manera eficiente. Para ello, indican las características que deben de tener dichos grupos protectores:

- El grupo amino ha de estar protegido de tal manera que no presente una función tipo amina secundaria;

- El grupo protector empleado debe poder eliminarse en condiciones tales que no se afecte la incipiente α -haloacetona;
- Con vistas a un escalado posterior del proceso, el agente usado para la protección, debe ser barato.

Estos autores propusieron el uso de derivados de aminoácidos protegidos a nivel del nitrógeno con funciones tipo *N*-imino, del tipo *N,N*-difenilmetileno^{53,54} o *N*-bencililideno, los cuales permitieron sintetizar las haloacetonas dianas con altos rendimientos y pureza óptica. (Esquema 1.28) Puesto que el derivado *N*-bencilidénico **LXXXV** se obtiene por reacción de un sustrato sencillo y barato (benzaldehído⁵⁵), mediante esta metodología se pudo realizar un escalado a 6000 L. Como puede comprobarse, una de las ventajas proporcionadas por esta técnica es sin duda la posibilidad de reducir al mínimo el empleo de un reactivo pirofórico y peligroso como *n*-BuLi.

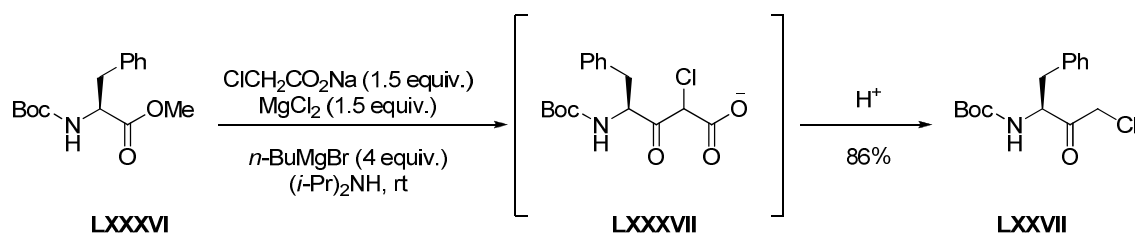


Esquema 1.28. Reacción de homologación mediante uso de un grupo protector tipo imino.

1.5.5. Rutas sintéticas alternativas para la preparación de α -aminoalquil- α' -haloacetonas.

Puesto que las α -haloacetonas son sustratos muy importantes desde un punto de vista industrial para la preparación de aminoepóxidos precursores de fármacos antirretrovirales¹⁹ se han diseñado, rutas sintéticas alternativas para su obtención, con objeto de minimizar (o incluso suprimir) los pasos de protección y eliminación de grupos protectores por evidentes razones de rentabilidad económica. Además, tal y como se ha visto, la química basada en los carbenoides de litio presenta toda una problemática relacionada con su alta inestabilidad lo que demanda condiciones de reacción muy estrictas para llevar a cabo un proceso industrial atractivo desde un punto de vista económico.

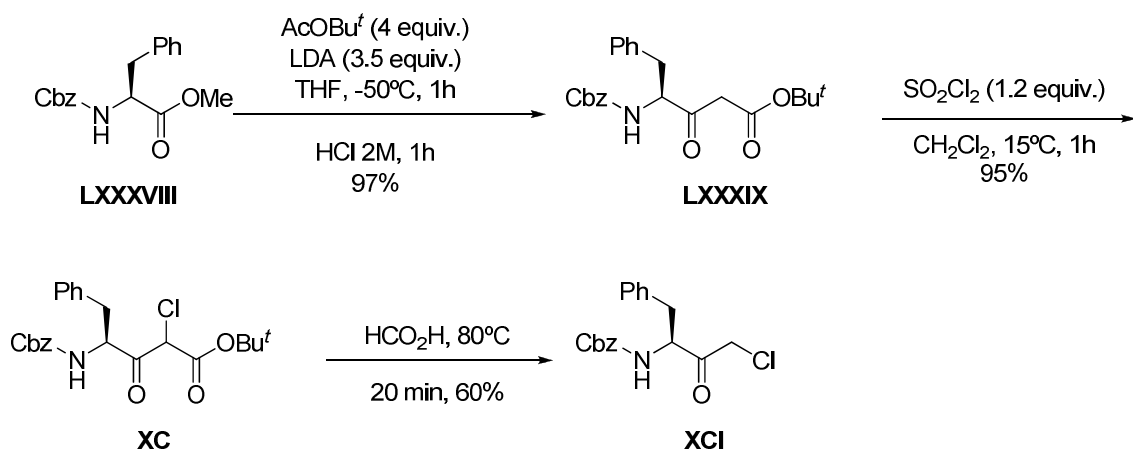
Para ello, Nishiyama y cols.,⁵⁶ de la compañía Kaneka han patentado un protocolo basado en la condensación de Claisen cruzada entre el éster metílico de la *N*-Boc-fenilalanina **LXXXVI** y el cloroacetato sódico en presencia de cloruro de magnesio. (Esquema 1.29) Sin duda, el logro fundamental de este método es el hecho de que la reacción se lleve a cabo a temperatura ambiente, lo que, sin duda, representa una innovación relevante en el ámbito de la química de las condensaciones con enolatos. Efectivamente, el mérito de estos autores ha sido reemplazar la diisopropilamida de litio normalmente empleada en este tipo de procesos, por la bis(diisopropilamida) de magnesio. Esta última base, cuyo uso en síntesis orgánica ha sido explotado por el grupo de Eaton,⁵⁷ presenta la enorme ventaja de ser efectiva a temperatura ambiente, lo que simplifica considerablemente el proceso. Finalmente, el simple tratamiento ácido del β -oxoéster intermedio permite la decarboxilación espontánea proporcionando la haloacetona deseada con alto rendimiento (86%). Debido a la suavidad de las condiciones experimentales del proceso, esta metodología se emplea para la síntesis del Nelfinavir.⁵⁶



Esquema 1.29. Reacción de homologación tipo Claisen cruzada con cloroacetato.

Como se ha dicho, la elección de la naturaleza de la base usada es de fundamental importancia para que se puedan emplear condiciones experimentales suaves y por lo tanto rentables. Polniaszek⁵⁸ ha propuesto una síntesis completamente análoga a la descrita anteriormente, de la cual se diferencia por la formación del enolato del cloroacetato mediante la clásica LDA, por lo que ha tenido que emplear condiciones de reacción estrictas (-78°C); es de destacar la desprotonación del grupo amino como consecuencia del tratamiento con BuLi.

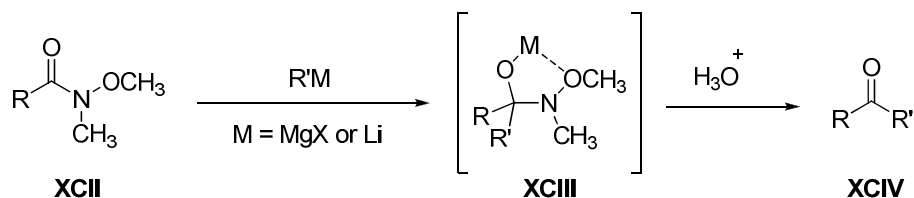
El grupo de Izawa,^{59,60} muy activo en este tema de investigación, ha aplicado un proceso tipo Claisen cruzada a una serie de ésteres de aminoácidos *N*-Cbz protegidos tipo **LXXXVIII**; en este caso, la condensación se ha llevado a cabo empleando el enolato procedente del acetato de *tert*-butilo de tal manera que se produzca una desprotonación regioselectiva a nivel del metilo del acetato. (Esquema 1.30) Las condiciones empleadas, aunque más drásticas por el uso de LDA, facilitan el β-oxoéster **LXXXIX** con un rendimiento cuantitativo, el cual posteriormente se clora selectivamente en la posición α a ambas funciones carbonílicas mediante cloruro de sulfuro, obteniéndose **XC**. La aplicabilidad general del proceso se ve limitada (con respecto al propuesto por Nishiyama) por el hecho de que la descarboxilación del β-oxoéster constituye el paso limitante del proceso, obteniéndose un rendimiento de **XCI** moderado de sólo un 60%. Más aún estos autores limitan la aplicabilidad a ésteres de aminoácidos *N*-protegidos.



Esquema 1.30. Ruta sintética de Claisen cruzada seguida por cloración del β-oxoéster intermedio.

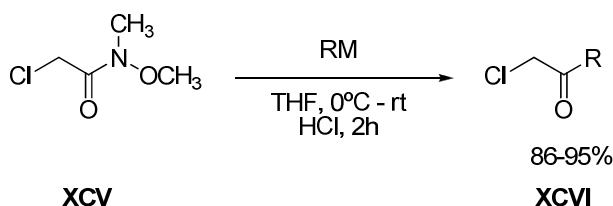
Como alternativa al uso de ésteres en la reacción de acilación de carbenóides de litio, una alternativa interesante proviene de considerar la versatilidad de las amidas de Weinreb (**XCII**) en reacciones con reactivos organometálicos,^{31,61} así, tal y como se representa en el Esquema

1.31, tras la adición del primer equivalente de la especie organometálica, por efecto de la quelación del metal entre el oxígeno del metoxilo y el del carbonilo, se forma un intermedio tetraédrico estable (**XCIII**)⁶² que se transforma en el correspondiente compuesto carbonílico (**XCIV**) en presencia de medio ácido.



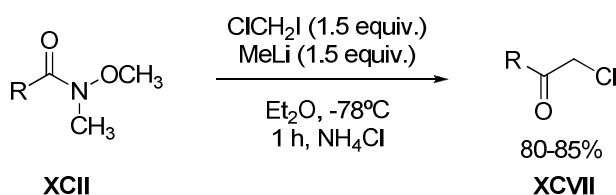
Esquema 1.31. Reactividad de las amidas de Weinreb con reactivos organometálicos.

Este tipo de química se ha aplicado con éxito a la síntesis de α -halocetonas simples según un mecanismo de acilación de un correspondiente reactivo de Grignard u organolítico. Frey y colaboradores⁶³ formalmente operan una sustitución nucleofílica del organometálico sobre la amida de Weinreb **XCIV**, la cual de por sí ya presente la función α -clorocarbonílica; estos autores destacan el hecho de que el uso de este tipo de reactivos elimina completamente fenómenos de poliadición y de enolización previamente descritos empleando funciones carboxílicas activadas como el cloruro, el anhídrido, o el nitrilo. (Esquema 1.32)



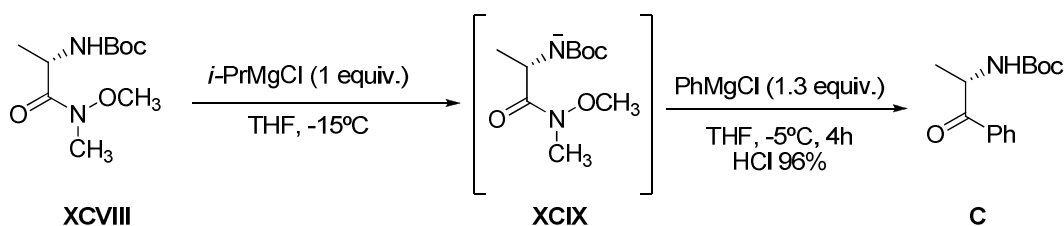
Esquema 1.32. Síntesis de α -clorocetonas mediante sustitución nucleofílica de amidas de Weinreb.

Sin embargo, en la bibliografía se recoge otro ejemplo descrito por Gaunt que emplea el carbenóide de litio LiCH_2Cl en una reacción con una amida de Weinreb⁶⁴; tal y como se recoge en el Esquema 1.32, la diferencia sustancial entre esta última metodología y la anterior de Frey se basa en que el incipiente grupo clorometilo se introduce por adición-eliminación, mientras que en la de Frey ese grupo estaba constitutivamente presente en la amida de Weinreb. En resumen, Gaunt usa como nucleófilo un carbenóide de litio mientras Frey un simple organometálico. (Esquema 1.33)



Esquema 1.33. Síntesis de clorometilcetonas mediante adición-eliminación de carbenóides de litio sobre amidas de Weinreb.

El protocolo basado en la funcionalización de una amida de Weinreb ha sido extendido también a la síntesis de α -aminocetonas en escala multi-Kg en la compañía Merck.⁶⁵ En este estudio (Esquema 1.34) se matiza el efecto de la desprotonación previa del grupo NH-Boc del compuesto **XCVIII** en α respecto a la amida de Weinreb: en particular, la pre-desprotonación de dicho grupo amínico llevada a cabo empleando un equivalente estequiométrico de un reactivo de Grignard (MeMgCl o *i*-PrMgCl) que, en este caso actúa exclusivamente como base, permite maximizar los rendimientos de la posterior adición del reactivo de Grignard que efectivamente participa en la formación del compuesto carbonílico deseado. Tal y como estos autores destacan, la adición única de 2.5 equivalentes de reactivo de Grignard, sin lograr antes la desprotonación del grupo amino (que al ser más ácido reacciona primero con el organometálico), conlleva una drástica reducción de los rendimientos de reacción.



Esquema 1.34. Síntesis de α -aminocetonas protegidas a partir de una amida de Weinreb y reactivos de Grignard.

1.6. Biorreducciones de compuestos carbonílicos para la obtención de alcoholes enantioméricamente puros.

A lo largo de los últimos años, la demanda de compuestos enantiopuros ha crecido de forma sustancial, principalmente dentro del ámbito de las industrias de aromas y agroquímica, y de forma aún más destacada en la industria farmacéutica.^{66,67} De forma general, los compuestos enantiopuros obtenidos a nivel industrial deben cumplir una serie de requisitos:⁶⁸

1. Los compuestos deben ser moléculas polifuncionales, sintones intermedios en procesos posteriores de síntesis orgánica.
2. La producción se lleva a cabo en escalas relativamente pequeñas (entre 1-1000 toneladas al año para productos farmacéuticos).
3. Los procesos de producción deben llevar a compuestos con alta pureza (>99%).
4. Los compuestos obtenidos deben tener un alto valor añadido.

En este sentido, la reducción estereoselectiva de un carbonilo proquiral (C=O) en un alcohol que posee un centro estereogénico (*CH-OH) es un proceso de gran importancia dentro del ámbito de la Síntesis Asimétrica, puesto que supone un proceso directo que transcurre con gran economía atómica⁶⁹ para la obtención de alcoholes enantioméricamente puros. En 2002, la producción de alcoholes quirales supuso unas ventas de 7 billones de dólares, estimándose un aumento de hasta 14,9 billones para el 2009.⁷⁰ Debido a la enorme importancia de este tipo de compuestos en la síntesis de fármacos y moléculas bioactivas, la reducción estereoselectiva de cetonas ha adquirido un enorme interés industrial, y a este efecto se han descrito numerosas rutas catalíticas; así, la hidrogenación asimétrica de cetonas catalizada por metales⁷¹ o el empleo

de boranos^{72,73} constituyen procesos que han sido descritos de manera eficiente a escala industrial. No obstante, se suelen precisar condiciones poco compatibles con la Química Sostenible,⁷⁴⁻⁷⁸ tales como temperaturas elevadas y el empleo de disolventes y/o reactivos tóxicos.

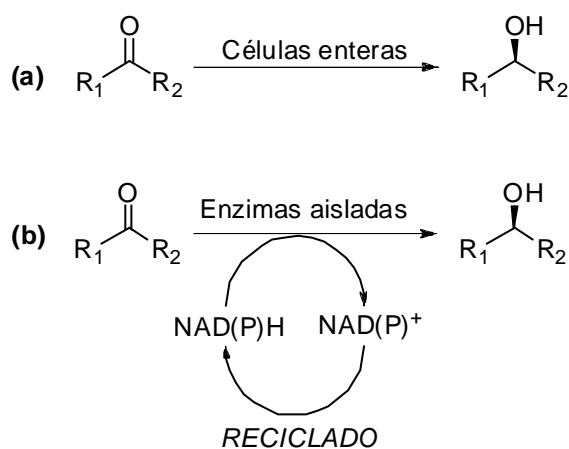
De forma complementaria a estos procesos quimiocatalíticos, la reducción estereoselectiva de cetonas empleando biocatalizadores (biorreducción⁷⁰) constituye una alternativa muy eficiente y atractiva, que opera en condiciones de pH y temperatura mucho más suaves. En efecto, esta tecnología ha conseguido salir del ámbito puramente académico⁷⁹ hasta convertirse en una plataforma tecnológica perfectamente viable a nivel industrial.⁸⁰⁻⁸² Así, la excelente eficacia catalítica, unida a la alta estereoselectividad que se puede obtener, son los grandes avales de los procesos de biorreducción a nivel industrial, por lo que no es de extrañar que su aplicabilidad industrial, en particular para la producción de alcoholes enantioméricamente puros como intermediarios de fármacos, haya sido claramente demostrada a través de un amplio abanico de aplicaciones tecnológicas en las industrias química y farmacéutica.^{83,84}

Las enzimas que catalizan los procesos de biorreducción son oxidorreductasas, clasificadas como E.C.1, según el NC-IUBMB (Nomenclature Committee of the International Union of Biotechnology and Molecular Biology).⁸⁵ Una posterior clasificación de las mismas las distingue en función del sustrato que reducen (u oxidan, dada la reversibilidad de la reacción). De manera paralela, las oxidorreductasas han sido organizadas en superfamilias, según la similitud de su secuencia primaria y el tipo de plegamiento de su estructura secundaria, por lo que estas superfamilias se solapan entre sí si tenemos en cuenta el tipo de sustrato sobre el que actúan. Las superfamilias descritas para la biorreducción de compuestos carbonílicos son:

1. **Deshidrogenasas/Reductasas de cadena corta (SDRs, *short-chain dehydrogenases/reductases*)**. Son enzimas monoméricas pequeñas, de aproximadamente 250 residuos aminoácidos, que divergen mucho en su secuencia primaria, presentando entre sí una similitud de entre un 15-30%.^{86,87} No obstante, todas se caracterizan por tener un plegamiento de Rossmann⁸⁸ (un motivo estructural clásico de proteínas de unión a nucleótidos, particularmente el cofactor NAD, compuesto por tres o más láminas beta paralelas unidas por dos hélices alfa en el orden topológico de beta-alfa-beta-alfa-beta), y un centro activo compuesto por una tétrada altamente conservada formada por Asn, Ser, Tyr y Lys.⁸⁹ Su preferencia por el cofactor depende de su origen: en levaduras, las SDRs dependen de NADPH, mientras que para humanos, plantas o ratones la distribución entre las que dependen de NADPH y las que lo hacen de NADH es bastante más equilibrada.⁹⁰⁻⁹² Estas enzimas pueden reducir aldehídos, cetonas, dicetonas y oxoésteres.
2. **Deshidrogenasas/Reductasas de cadena media (MDRs, *medium-chain dehydrogenases/reductases*)**. Son muy divergentes en su secuencia primaria⁹²⁻⁹⁴ (aunque su estructura tridimensional es similar, con un requerimiento general de una tirosina en el centro activo), por lo que estudios filogenéticos las dividen en subfamilias, familias y macrofamilias.⁹⁵ Todas ellas usan NADH o NADPH, y el centro activo de algunas posee un átomo de zinc, que está involucrado en la transferencia de electrones hasta la molécula aceptora. Al igual que las SDRs, pueden reducir aldehídos, cetonas, dicetonas y oxoésteres.
3. **Aldo-ceto reductasas (*Aldo-Keto Reductases*, **AKRs**)**. Esta superfamilia se caracteriza por una tétrada conservada (His, Tyr, Asp, Lys) de residuos en el centro activo.⁹⁶⁻⁹⁸ Son enzimas monoméricas, de entre 34 y 37 KDa, dependientes de NADPH o NADH

(algunas AKRs pueden aceptar ambos, aunque con diferente constante de afinidad⁹⁹. Existe una página web¹⁰⁰ dedicada a esta superfamilia, donde se presentan diferentes miembros de la misma, caracterizados por una estructura tridimensional llamada barril TIM,¹⁰¹ motivo estructural de proteínas muy conservado que consiste en ocho hélices alfa y ocho láminas beta paralelas que se alternan en el esqueleto de la proteína. Al igual que las SDRs y las MDRs, pueden reducir aldehídos, cetonas, dicetonas y oxoésteres.

4. **Superfamilia de reductasas dependientes de mononucleótido de flavina (FMN).** Estas enzimas se conocen como las “**viejas enzimas amarillas**” (**OYE**, *old yellow enzymes*), debido a su color asociado al cofactor de flavina. Son enoato reductasas (EC 1.3 o EC 1.6), que son capaces de reducir dobles enlaces C=C.¹⁰²



Esquema 1.35. Biorreducción de compuestos carbonílicos catalizadas por células o por enzimas aisladas.

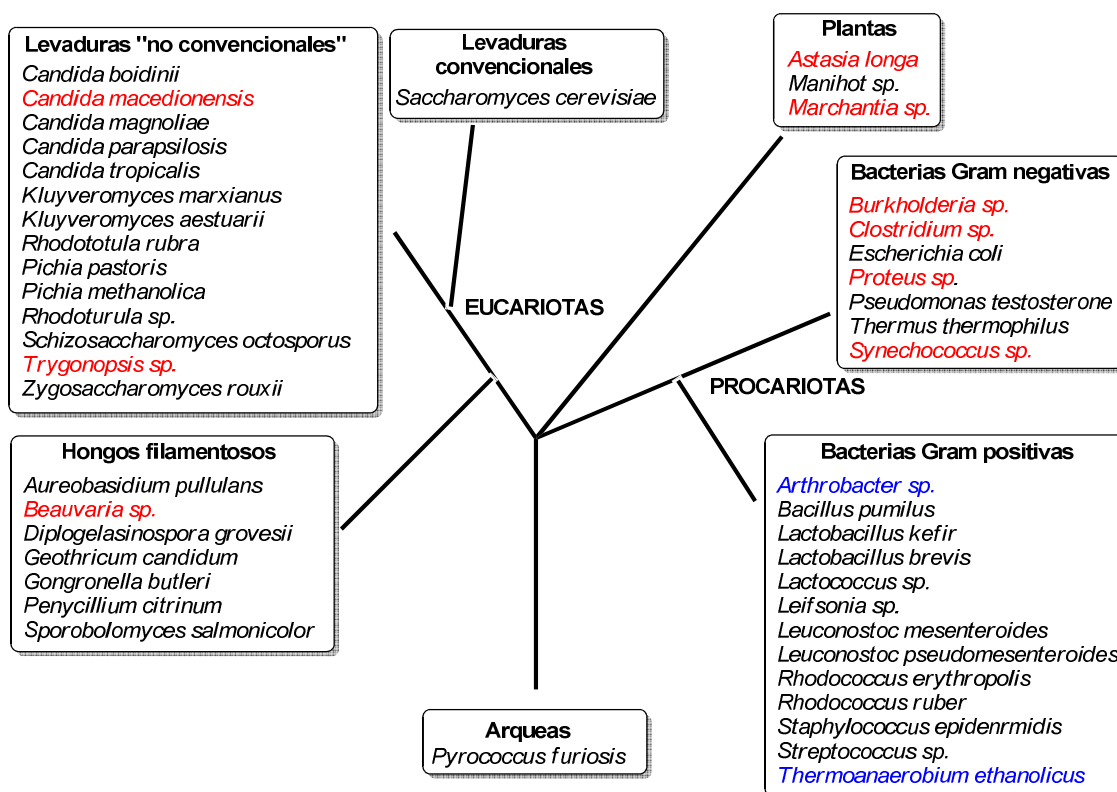
La biorreducción de compuestos carbonílicos puede ser catalizada bien por células enteras **(a)** o enzimas aisladas **(b)**, como se indica en el esquema 1.35. Puesto que, tal y como indicamos anteriormente, tanto las SDRs como las MDRs y las AKRs pueden catalizar la reducción de compuestos carbonílicos, utilizaremos el término genérico de **Carbonil Reductasas (CRs)**¹⁰³ para referirnos a ellas.

En la bibliografía se han descrito una gran variedad de enzimas y de microorganismos de múltiples géneros, desde arqueas hasta plantas capaces de catalizar reacciones de reducción;^{84,104} en el esquema 1.36 se recogen diferentes microorganismos usados para procesos redox, mientras que la tabla 1.1 presenta las CRs habitualmente usadas como enzimas aisladas. En una excelente revisión recientemente publicada,¹⁰³ se recogen las principales CRs disponibles, siguiendo como criterios los siguientes: que permitan obtener algún producto con un exceso enantiomérico mayor de 98%, que hayan sido descritas en reacciones con volúmenes al menos de 10 mL y que la enzima responsable de la reducción asimétrica haya sido caracterizada.

Tabla 1.1. Principales Carbonil Reductasas (CRs) habitualmente usadas.

Carbonil Reductasa	Especificidad*	Cofactor	Referencias
ADH de levadura	Prelog	NADH	105-107
ADH de hígado de caballo	Prelog	NADH	108-117
ADH de <i>Thermoanaerobium brockii</i>	Prelog	NADPH	118-122
Hidroxiesteroides DH	Prelog	NADH	123
ADH de <i>Candida parapsilosis</i>	Prelog	NADH	124-128
ADH de <i>Rhodococcus erythropolis</i>	Prelog	NADH	129-133
ADH de <i>Lactobacillus kefir</i>	Anti-Prelog	NADPH	134-137
ADH de <i>Pseudomonas spp.</i>	Anti-Prelog	NADH	138-140

*Ver Esquema 1.37



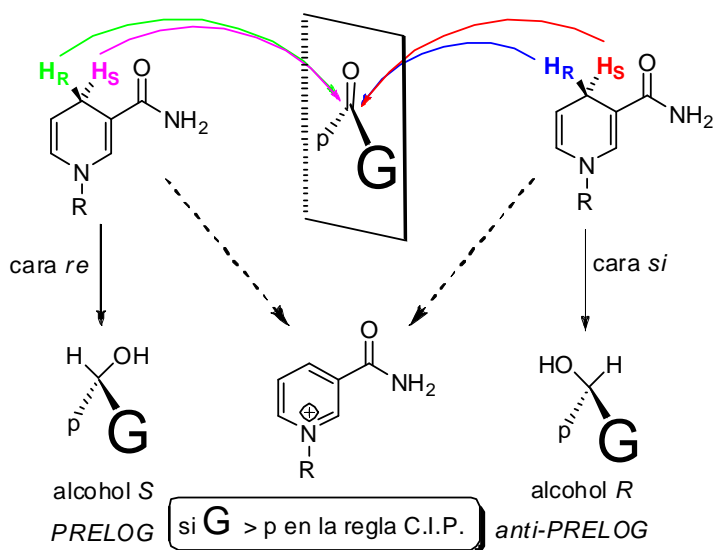
Esquema 1.36. Origen de las principales oxidorreductasas descritas para la reducción estereoselectiva de compuestos carbonílicos (negro), alquenos (rojo) y aminación reductiva de oxoácidos (azul).

El uso de enzimas aisladas a escala preparativa y a nivel industrial ha sido objeto de recientes revisiones.^{141,142} De forma general, las enzimas que se emplean en las industrias alimentarias, farmacéutica, agroquímica, son catalizadores que permiten alcanzar unos incrementos en las velocidades de reacción de hasta 10^7 veces comparados con los catalizadores químicos, y trabajando a condiciones mucho más suaves de presión y temperatura,¹⁴³ y de hecho están consideradas como los biocatalizadores más selectivos de los que se dispone.¹⁴⁴ Actualmente, existen en el mercado diferentes “kits” de CRs, donde se comercializan distintas enzimas que pueden ser chequeadas para la reducción de un determinado compuesto carbonílico (por

ejemplo, de evocatal GmbH, <http://www.biocatal.com/upload/file/12-adh-kit-1-1-100.pdf>, o de Daicel, <http://www.daicelchiral.com/en/contents/chiralscreen/>).

En sistemas donde se emplean células enteras,¹⁴⁵ la estereoselectividad de la reacción viene marcada por la que determine la reductasa que predomine dentro del microorganismo, puesto que pueden existir más de una enzima que presente dicha capacidad.¹⁰⁶ De hecho, ésta suele ser la causa de que a veces la estereoselectividad obtenida con células enteras sea baja, pues esas enzimas pueden tener estereopreferencias opuestas.¹⁴⁶⁻¹⁴⁸ No obstante, el hecho de que existan muchas colecciones de microorganismos comercialmente disponibles (ATCC, NCTC, DSMZ o CCUG¹⁴³) constituye una gran ventaja respecto al empleo de enzimas aisladas, puesto que el número de las mismas al cual se puede acceder comercialmente es mucho más limitado.^{103,141} Por otra parte, citaremos que las células enteras pueden ser utilizadas en procesos de biorreducción en diferentes estados:¹⁴⁹ en reposo,¹⁵⁰⁻¹⁵⁵ en crecimiento,¹⁵⁶⁻¹⁵⁸ permeabilizadas¹⁵⁹ o liofilizadas,¹⁶⁰ aunque generalmente suele ser el primer tipo el más frecuente. Aunque, como hemos señalado anteriormente, la mayoría de los procesos industriales se llevan a cabo empleando células enteras, desde el punto de vista de la Química Sostenible, el uso de enzimas aisladas (o células enteras muertas) es preferible, porque esto permite que no se genere mucha biomasa derivada del crecimiento celular.¹⁶¹ En efecto, una característica habitual de los procesos catalizados por células enteras es su baja productividad, debido a que los sustratos que se desea reducir suelen ser tóxicos para el microorganismo, siendo tolerados de manera general a concentraciones entre el 0.1 y el 0.3%.¹⁶² Por ello, la existencia de una gran cantidad de biomasa en el medio de reacción conduciría a bajos rendimientos globales y dificultaría la purificación del sustrato. En este sentido, el parámetro quimiométrico Factor E (cociente (en masa) de productos de desecho respecto a producto final en un esquema sintético)^{69,163,164} es muy alto para estos procesos

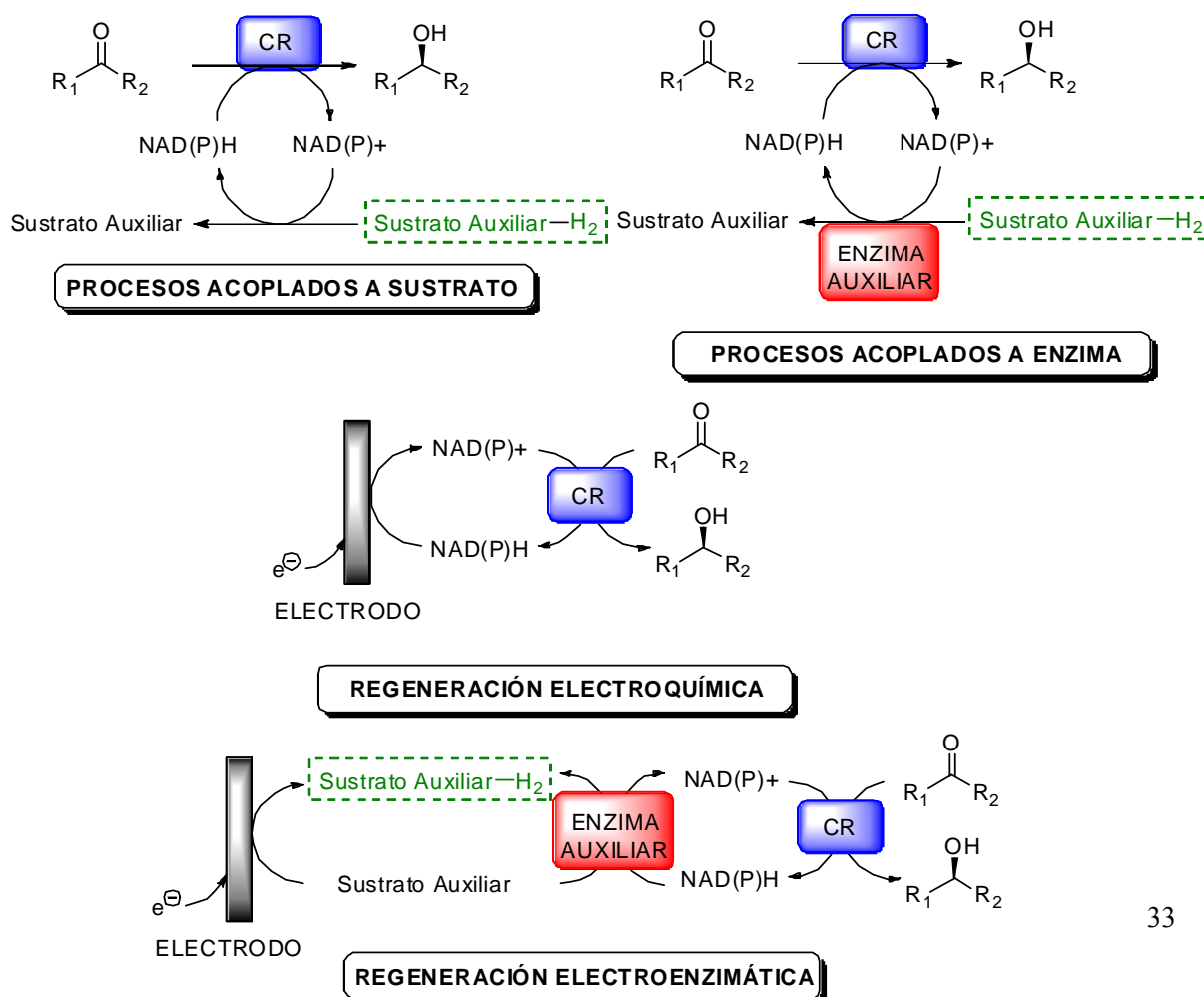
En cualquier caso, las oxidorreductasas responsables de estos procesos, ya sean en forma de enzimas aisladas o células enteras, precisan de cofactores tipo NAD(P)H para suministrar el equivalente de hidruro necesario para la biorreducción, tal y como se indica en el Esquema 1.37.



Esquema 1.37. Estereoquímica de la reducción de carbonilos.

Durante el curso de la reacción, dicho equivalente se transfiere a través de la cara *re* o la cara *si* de la cetona para originar bien el alcohol *S* o el alcohol *R*. Para la mayoría de los casos, el curso estereoquímico de la reacción puede preverse atendiendo al tamaño relativo de los sustituyentes (*p*, pequeño; *G*, grande) del carbono sp^2 de la cetona, en lo que se conoce como la regla de Prelog^{165,166}. En este sentido, y siempre que el tamaño de los sustituyentes se corresponda con la prioridad asignada por las reglas C.I.P. de secuencia, aquellos biocatalizadores que ceden el hidruro por la cara *re* para originar el alcohol *S* reciben el nombre de “*Prelog*”, mientras que cuando la transferencia de hidruro se realiza por la cara *si* (para originar el alcohol *R*) se habla de CRs “*anti-Prelog*”. En la tabla 1.1 se recogen las preferencias estereoquímicas de las principales CRs comercialmente disponibles.

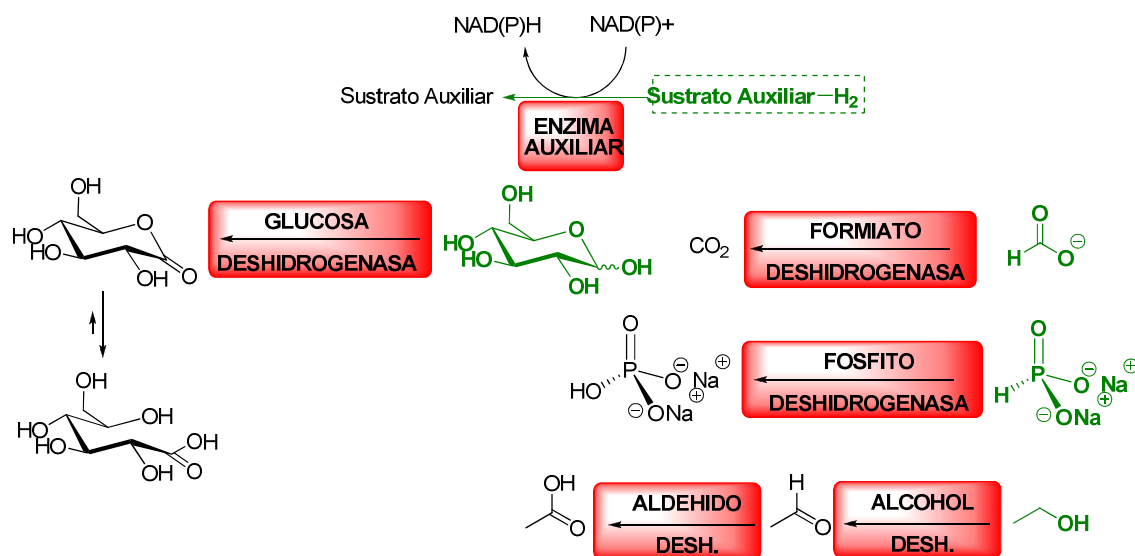
Por otra parte, hay que considerar que en la reacción de reducción de un compuesto carbonílico hasta el correspondiente alcohol (esquema 1.37) se consume un equivalente de cofactor (NAD(P)H) por cada equivalente de sustrato convertido, generando un equivalente de cofactor oxidado (NAD(P)⁺). Debido a este hecho, cuando se emplean enzimas aisladas es necesario desarrollar un sistema de regeneración de cofactor, pues de otra manera el proceso sería económicamente muy desfavorable. Por ello, no es de extrañar que aproximadamente un 75% de los procesos de biorreducciones industriales empleen células enteras,⁷⁰ pues en estos casos el microorganismo posee la maquinaria metabólica requerida para la regeneración del cofactor. Existen diferentes formas para llevar a cabo esta regeneración,¹⁶⁷⁻¹⁷¹ recogidos en el esquema 1.38; los procesos más habituales son aquellos que implican un sustrato auxiliar (procesos acoplados a sustrato), un sustrato auxiliar y una enzima auxiliar (procesos acoplados a enzima), o bien procesos electroquímicos y/o electroenzimáticos, usados a nivel de laboratorio, pero que aún no han encontrado aplicación industrial.¹⁶⁷ De todos ellos, son los acoplados a enzima y/o sustrato los más empleados a nivel industrial.^{84,167,169}



Esquema 1.38. Procesos de regeneración de cofactor.

Entre ellos, el segundo método implica que una sola enzima debe encargarse de los dos procesos, la reducción del sustrato de interés y la oxidación del sustrato auxiliar. En la mayoría de los casos,¹⁴¹ este sustrato auxiliar es *iso*-propanol, el cual tiene la doble misión de actuar como sustrato auxiliar por un lado, y por el otro ayudar a solubilizar el sustrato principal. Como desventaja, citaremos principalmente dos: por un lado, el hecho de que la misma enzima tenga que ocuparse de los dos procesos reduce la actividad específica del biocatalizador; por otra parte, ninguna de las dos reacciones acopladas es irreversible, de manera que la máxima conversión obtenida vendría dictada por la concentración alcanzada en equilibrio. Por tanto, se precisa actuar sobre la reacción de oxidación de *isopropanol*, bien añadiendo un exceso del mismo o bien eliminando la acetona a medida que se va formando, para poder tener un proceso que conduzca a altas conversiones. Asimismo, aunque como hemos comentado anteriormente el empleo de células enteras hace innecesaria la regeneración del cofactor, en muchos casos¹⁷²⁻¹⁷⁶ se emplea esta estrategia de usar el *isopropanol* cuando se trabaja con este tipo de biocatalizadores, tanto por temas de solubilidad de sustrato como para ayudar a la reacción principal de reducción.

En los llamados procesos acoplados a enzima, tal y como se ha comentado anteriormente, se precisan dos enzimas y dos sustratos. Los procesos más habituales aparecen representados en el esquema 1.39.



Esquema 1.39. Principales sistemas de enzimas y sustratos auxiliares empleadas en biorreducciones.

Cuando se emplea formiato como sustrato auxiliar, la enzima auxiliar empleada es la *Formiato Deshidrogenasa* (FDH), que transforma dicho sustrato en dióxido de carbono. Puesto que este paso es irreversible en las condiciones habituales de reacción, debido a la naturaleza gaseosa del dióxido de carbono, el equilibrio del proceso de reducción de la cetona deseada (esquema 1.39) está completamente desplazado hacia el producto final, lo que supone una gran ventaja y permite obtener conversiones elevadas (en torno al 99-100%). Asimismo, el formiato es un co-

sustrato bastante barato, por lo que este sistema es sin duda uno de los más empleados, a pesar de la baja estabilidad de la FDH, lo que obliga a aplicar procesos de inmovilización-estabilización (una descripción detallada de este proceso, así como de todos los demás sistemas empleados, se puede encontrar en la reciente revisión publicada por Berenguer-Murcia y Fernández-Lafuente¹⁶⁷). Señalaremos que, a nivel industrial, el empleo de FDH de *Candida boidinii* es el único descrito hasta ahora, siendo empleado por la compañía Degussa para la obtención de *L-tert-leucina* a nivel de multi-toneladas año.^{84,177} La desventaja de que esta enzima sólo funcione con el NAD⁺ se ha solventado recientemente gracias a las técnicas de ingeniería genética,¹⁷⁸ lo que ha permitido obtener una enzima capaz de regenerar igualmente el NADP⁺.

El otro sistema clásico de regeneración es el empleo de glucosa y *Glucosa Deshidrogenasa* (GDH), enzima que cataliza su oxidación hasta *D-gluconolactona*. La irreversibilidad de este proceso viene marcada por la apertura espontánea de la misma hasta ácido *D-gluconico*, el cual es subsecuentemente neutralizado mediante la adición de una base para originar la correspondiente sal. Al igual que sucede con el *iso*-propanol, también está descrito el uso de glucosa como sustrato auxiliar cuando se emplean células enteras.^{153,179-181} Alternativamente, se ha descrito el uso de la *Glucosa 6-Fosfato Deshidrogenasa* (G-6-PDH) empleando como sustrato auxiliar glucosa 6-fosfato,¹⁴¹ aunque el alto precio del sustrato auxiliar hace necesario el empleo de técnicas de mutación de la enzima para permitir el uso de glucosa como sustrato.¹⁶⁹ Por otra parte, el uso de etanol (como sustrato auxiliar) y alcohol deshidrogenasa presenta como desventaja el bajo potencial redox del sistema, así como la necesidad de emplear otra enzima (aldehído deshidrogenasa) para llegar hasta el ácido y lograr la deseada irreversibilidad.¹⁶²

Una alternativa reciente es el uso del sistema de fosfito y *Fosfito Deshidrogenasa* (PTDH),¹⁸²⁻¹⁸⁴ interesante desde el punto de vista del bajo precio del sustrato auxiliar, del nulo efecto de toxicidad del fosfito y el fosfato sobre las enzimas, y del alto grado de irreversibilidad obtenido. No obstante, aún no existen aplicaciones a nivel comercial.

En cualquier caso, para medir la efectividad del proceso de biorreducción con enzimas aisladas y reciclado de cofactor, se suele emplear el llamado Número Total de Recambio (*Total Turnover Number*, TTN), que cuantifica el número de moles de sustrato convertidos por unidad de tiempo y por mol de cofactor.¹⁸⁵ Así, para reacciones a escala de laboratorio, valores de TTN entre 10³ y 10⁵ son adecuados, mientras que para procesos a nivel industrial se requieren valores superiores.¹⁶²

Finalmente, indicaremos que existen descritos en la bibliografía cientos de ejemplos de biorreducciones a nivel de laboratorio, recogidos en diferentes revisiones que se han citado a lo largo de este capítulo.^{70,79,81-83,103,104,141,142,144,145,181,186-188} Sería, pues, de todo punto imposible comentar todos y cada uno de los ejemplos ahí mencionados.

1.7. Bibliografía

- (1) Martone, W. J.; Jarvis, W. R.; Edwards, J. R.; Culver, D.; Haley, R. W. Incidence and Nature of Endemic and Epidemic Nosocomial Infections. In *Hospital Infections*; 4th ed.; Bennett, J. V., Brachman, P. S., Eds.; Lippincott, Williams and Wilkins: Philadelphia, PA, 1998; p 461.
- (2) Slee, A. M.; Wuonola, M. A.; McRipley, R. J.; Zajac, I.; Zawada, M. J.; Bartholomew, P. T.; Gregory, W. A.; Forbes, M. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1987**, *31*, 1791.
- (3) Gregory, W. A. US4461773, 1984
- (4) Ranger, L. In *Creation of a Novel Class: The Oxazolidinones Antibiotics*; Batts, D. H., Kolleff, M. H., Lipsky, B. A., Nicolau, D. P., Weigelt, J. A., Eds.; Innova Institute for Medical Education: Tampa, FL, 2004; p 30.
- (5) Brickner, S. J.; Hutchinson, D. K.; Barbachyn, M. R.; Manninen, P. R.; Ulanowicz, D. A.; Garmon, S. A.; Grega, K. C.; Hendges, S. K.; Toops, D. S.; Ford, C. W.; Zurenko, G. E. *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 673.
- (6) Barbachyn, M. R.; Ford, C. W. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 2010.
- (7) Brickner, S. J.; Barbachyn, M. R.; Hutchinson, D. K.; Manninen, P. R. *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 1981.
- (8) Lin, A.; Murray, R.; Vidmar, T.; Marotti, K. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1997**, *41*, 2127.
- (9) Mukhtar, T. A.; Wright, G. D. *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 529.
- (10) Miyata, O.; Asai, H.; Naito, T. *Synlett* **1999**, 1999, 1915.
- (11) Zappia, G.; Gacs-Baitz, E.; Delle Monache, G.; Misiti, D.; Nevola, L.; Botta, B. *Curr. Org. Synth.* **2007**, *4*, 81.
- (12) Evans, D. A. *Aldrichim. Acta* **1982**, *15*, 23.
- (13) Wang, C.-L. J.; Gregory, W. A.; Wuonola, M. A. *Tetrahedron* **1989**, *45*, 1323.
- (14) Herweh, J. E.; Kauffman, W. J. *Tetrahedron Lett.* **1971**, *12*, 809.
- (15) Pearlman, B. A.; Perrault, W. R.; Barbachyn, M. R.; Manninen, P. R.; Toops, D. S.; Houser, D. J.; Fleck, T. J. US5837870, 1998
- (16) Narina, S. V.; Sudalai, A. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 6799.
- (17) Mallesham, B.; Rajesh, B. M.; Reddy, P. R.; Srinivas, D.; Trehan, S. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 963.
- (18) Reeder, M. R.; Anderson, R. M. *Chem. Rev.* **2006**, *106*, 2828.
- (19) Izawa, K.; Onishi, T. *Chem. Rev.* **2006**, *106*, 2811.
- (20) Barluenga, J.; Baragana, B.; Concellon, J. M. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 6696.
- (21) Arndt, F.; Eistert, B. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1935**, *68*, 200.
- (22) Black, T. H. *Aldrichim. Acta* **1983**, *16*, 3.
- (23) Archibald, T. G. *Chim. Oggi* **2000**, *18*, 34.
- (24) Kaldor, S. W.; Kalish, V. J.; Davies, J. F.; Shetty, B. V.; Fritz, J. E.; Appelt, K.; Burgess, J. A.; Campanale, K. M.; Chirgadze, N. Y.; Clawson, D. K.; Dressman, B. A.; Hatch, S. D.; Khalil, D. A.; Kosa, M. B.; Lubbehusen, P. P.; Muesing, M. A.; Patick, A. K.; Reich, S. H.; Su, K. S.; Tatlock, J. H. *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 3979.
- (25) Corey, E. J.; Chaykovsky, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1962**, *84*, 867.
- (26) Wang, D.; Schwinden, M. D.; Radesca, L.; Patel, B.; Kronenthal, D.; Huang, M.-H.; Nugent, W. A. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 1629.
- (27) Afagh, Nicholas A.; Yudin, Andrei K. *Angew. Chem. Int. Ed.*, *49*, 262.
- (28) Dess, D. B.; Martin, J. C. *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 4155.
- (29) Revesz, L.; Briswalter, C.; Heng, R.; Leutwiler, A.; Mueller, R.; Wuethrich, H.-J. *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 9693.
- (30) Wang, Y.; Huang, J.-C.; Zhou, Z.-l.; Yang, W.; Guastella, J.; Drewe, J.; Cai, S. X. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 1269.
- (31) Balasubramaniam, S.; Aidhen, I. S. *Synthesis* **2008**, 3707.
- (32) Taguchi, H.; Yamamoto, H.; Nozaki, H. *Bull. Chem. Soc. Jp.* **1977**, *50*, 1592.
- (33) Tarhouni, R.; Kirschleger, B.; Rambaud, M.; Villieras, J. *Tetrahedron Lett.* **1984**, *25*, 835.

-
- (34) Kowalski, C. J.; Reddy, R. E. *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 7194.
- (35) Cainelli, G.; Tangari, N.; Ronchi, A. U. *Tetrahedron* **1972**, *28*, 3009.
- (36) Walborsky, H. M.; Duraisamy, M. *Tetrahedron Lett.* **1985**, *26*, 2743.
- (37) Köbrich, G.; Akhtar, A.; Ansari, F.; Breckoff, W. E.; Büttner, H.; Drischel, W.; Fischer, R. H.; Flory, K.; Fröhlich, H.; Goyert, W.; Heinemann, H.; Hornke, I.; Merkle, H. R.; Trapp, H.; Zündorf, W. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1967**, *6*, 41.
- (38) Barluenga, J.; Llavona, L.; Concellon, J. M.; Yus, M. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I* **1991**, 297.
- (39) Barluenga, J.; Llavona, L.; Concellon, J. M.; Yus, M. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I* **1990**, 417.
- (40) Barluenga, J.; Fernández-Simón, J. M.; Concellon, J. M.; Yus, M. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I* **1989**, 691.
- (41) Barluenga, J.; Fernández-Simón, J. M.; Concellon, J. M.; Yus, M. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I* **1989**, 77.
- (42) Creary, X. *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 5026.
- (43) Barluenga, J.; Baragana, B.; Alonso, A.; Concellon, J. M. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1994**, 969.
- (44) Chen, P.; Cheng, P. T. W.; Spengel, S. H.; Zahler, R.; Wang, X.; Thottathil, J.; Barrish, J. C.; Polniaszek, R. P. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 3175.
- (45) Buckley, T. F.; Rapoport, H. *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 6157.
- (46) Reeder, M. R. WO 200225877, 2002
- (47) Gohring, W.; Gokhale, S.; Hilpert, H.; Roessler, F.; Schlageter, M.; Vogt, P. *Chimia* **1996**, *50*, 532.
- (48) Smith, C. J.; Tsang, M. W. S.; Holmes, A. B.; Danheiser, R. L.; Tester, J. W. *Org. Biomol. Chem.* **2005**, *3*, 3767.
- (49) Suresh Babu, V. V.; Vasanthakumar, G.-R.; Tantry, S. J. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 4099.
- (50) Walter, M. W.; Adlington, R. M.; Baldwin, J. E.; Schofield, C. J. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 5179.
- (51) Onishi, T.; Hirose, N.; Nakano, T.; Nakazawa, M.; Izawa, K. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 5883.
- (52) Onishi, T.; Nakano, T.; Hirose, N.; Nakazawa, M.; Izawa, K. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 5887.
- (53) O'Donnell, M. J.; Polt, R. L. *J. Org. Chem.* **1982**, *47*, 2663.
- (54) Polt, R.; Peterson, M. A. *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 4985.
- (55) Dondoni, A.; Perrone, D. *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 7259.
- (56) Nishiyama, A.; Sugawa, T.; Manabe, H.; Inoue, K.; Yoshida, N. WO PCT 96/23756, 1996
- (57) Zhang, M.-X.; Eaton, P. E. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2169.
- (58) Wang, X.; Thottathil, J. K.; Polniaszek, R. P. *Synlett* **2000**, 902.
- (59) Honda, Y.; Katayama, S.; Kojima, M.; Suzuki, T.; Izawa, K. *Org. Lett.* **2002**, *4*, 447.
- (60) Honda, Y.; Katayama, S.; Kojima, M.; Suzuki, T.; Kishibata, N.; Izawa, K. *Org. Biomol. Chem.* **2004**, *2*, 2061.
- (61) Nahm, S.; Weinreb, S. M. *Tetrahedron Lett.* **1981**, *22*, 3815.
- (62) Adler, M.; Adler, S.; Boche, G. *J. Phys. Org. Chem.* **2005**, *18*, 193.
- (63) Tillyer, R.; Frey, L. F.; Tschaen, D. M.; Dolling, U. H. *Synlett* **1996**, 225.
- (64) Bremeyer, N.; Smith, S. C.; Ley, S. V.; Gaunt, M. J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 2681.
- (65) Liu, J.; Ikemoto, N.; Petrillo, D.; Armstrong, J. D. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 8223.
- (66) Nuñez, M. C.; García-Rubiño, M. E.; Conejo-García, A.; Cruz-López, O.; Kimatrai, M.; Gallo, M. A.; Espinosa, A.; Campos, J. M. *Curr. Med. Chem.* **2009**, *16*, 2064.
- (67) Davies, I. W.; Welch, C. J. *Science* **2009**, *325*, 701.
- (68) Blaser, H.-U.; Pugin, B.; Spindler, F. *J. Mol. Catal. A: Chem.* **2005**, *231*, 1.
- (69) Sheldon, R. A. *Compt. Rend. Acad. Sci. Ser. IIC: Chim.* **2000**, *3*, 541.

- (70) Parachin, N. S.; Carlquist, M.; Gorwa-Grauslund, M. F. In *Encyclopedia of Industrial Biotechnology: Bioprocess, Bioseparation, and Cell Technology*; Flickinger, M. C., Ed.; John Wiley and sons, Inc.: 2010.
- (71) Noyori, R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2008.
- (72) Ma, J.-A.; Cahard, D. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 4566.
- (73) Burkhardt, E. R.; Matos, K. *Chem. Rev.* **2006**, *106*, 2617.
- (74) *Green chemistry: theory and practice*; Anastas, P. T.; Warner, J. C., Eds.; Oxford University Press: Oxford, 1998.
- (75) Anastas, P. T. Green chemistry as applied to solvents. In *Clean Solvents - Alternative Media for Chemical Reactions and Processing*; Abraham, M. A., Moens, L., Eds. 2002; 1.
- (76) Tucker, J. L. *Org. Proc. Res. Dev.* **2010**, *14*, 328.
- (77) Anastas, P. T. *Tetrahedron* **2010**, *66*, 1026.
- (78) Anastas, P.; Eghbali, N. *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 301.
- (79) Nakamura, K.; Matsuda, T. *Curr. Org. Chem.* **2006**, *10*, 1217.
- (80) Pollard, D. J.; Woodley, J. M. *Trends Biotechnol.* **2007**, *25*, 66.
- (81) De Wildeman, S. M. A.; Sonke, T.; Schoemaker, H. E.; May, O. *Acc. Chem. Res.* **2007**, *40*, 1260.
- (82) Huisman, G. W.; Liang, J.; Krebber, A. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2010**, *14*, 122.
- (83) Chartrain, M.; Greasham, R.; Moore, J.; Reider, P.; Robinson, D.; Buckland, B. *J. Mol. Catal. B: Enzym.* **2001**, *11*, 503.
- (84) Liese, A.; Seelbach, K.; Wandrey, C. *Industrial Biotransformations*; 2nd ed.; John Wiley and sons, Inc. Verlag GmbH & Co, kGaA.: Weinheim, 2006.
- (85) Moss, G. Last update: March 13, 2006.
- (86) Oppermann, U.; Filling, C.; Hult, M.; Shafqat, N.; Wu, X.; Lindh, M.; Shafqat, J.; Nordling, E.; Kallberg, Y.; Persson, B.; Jörnvall, H. *Chem. Biol. Interact.* **2003**, *143-144*, 247.
- (87) Persson, B.; Kallberg, Y.; Bray, J. E.; Bruford, E.; Dellaporta, S. L.; Favia, A. D.; Duarte, R. G.; Jörnvall, H.; Kavanagh, K. L.; Kedishvili, N.; Kisiela, M.; Maser, E.; Mindnich, R.; Orchard, S.; Penning, T. M.; Thornton, J. M.; Adamski, J.; Oppermann, U. *Chem. Biol. Interact.* **2009**, *178*, 94.
- (88) Rao, S. T.; Rossmann, M. G. *J. Mol. Biol.* **1973**, *76*, 241.
- (89) Gani, O. A. B. S. M.; Adekoya, O. A.; Giurato, L.; Spyraakis, F.; Cozzini, P.; Guccione, S.; Winberg, J.-O.; Sylte, I. *Biophys. J.* **2008**, *94*, 1412.
- (90) Kallberg, Y.; Oppermann, U.; Jörnvall, H.; Persson, B. *Eur. J. Biochem.* **2002**, *269*, 4409.
- (91) Persson, B.; Kallberg, Y.; Oppermann, U.; Jörnvall, H. *Chem. Biol. Interact.* **2003**, *143-144*, 271.
- (92) Persson, B.; Hedlund, J.; Jörnvall, H. *Cell. Mol. Life Sci.* **2008**, *65*, 3879.
- (93) Jörnvall, H.; Hoog, J. O.; Persson, B. *FEBS Lett.* **1999**, *445*, 261.
- (94) Jörnvall, H.; Shafqat, J.; Persson, B. *Chem. Biol. Interact.* **2001**, *130*, 491.
- (95) Riveros-Rosas, H.; Julian-Sanchez, A.; Villalobos-Molina, R.; Pardo, J. P.; Pina, E. *Eur. J. Biochem.* **2003**, *270*, 3309.
- (96) Jez, J. M.; Flynn, T. G.; Penning, T. M. *Biochem. Pharmacol.* **1997**, *54*, 639.
- (97) Jez, J. M.; Bennett, M. J.; Schlegel, B. P.; Lewis, M.; Penning, T. M. *Biochem. J.* **1997**, *326*, 625.
- (98) Penning, T. M.; Drury, J. E. *Arch. Biochem. Biophys.* **2007**, *464*, 241.
- (99) Verduyn, C.; Vankleef, R.; Frank, J.; Schreuder, H.; Vandijken, J. P.; Scheffers, W. A. *Biochem. J.* **1985**, *226*, 669.
- (100) Hyndman, D.; Penning, T. M.; Jin, Y.; Drury, J.; Mindnich, R.; Spitzer, S. H.; Peña, A.
- (101) Wierenga, R. K. *Febs Lett.* **2001**, *492*, 193.
- (102) Stuermer, R.; Hauer, B.; Hall, M.; Faber, K. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2007**, *11*, 203.
- (103) Hiroaki, Y. In *Encyclopedia of Industrial Biotechnology: Bioprocess, Bioseparation, and Cell Technology*; Flickinger, M. C., Ed.; John Wiley and sons, Inc.: 2010.

-
- (104) Kataoka, M.; Kita, K.; Wada, M.; Yasohara, Y.; Hasegawa, J.; Shimizu, S. *Appl. Microbiol. Biot.* **2003**, *62*, 437.
- (105) Klinman, J. P. *Crit. Rev. Biochem.* **1981**, *10*, 39.
- (106) Leskovac, V.; Trivic, S.; Pericin, D. *FEMS Yeast Res.* **2002**, *2*, 481.
- (107) Smidt, O. d.; Preez, J. C. d.; Albertyn, J. *Fems. Yeast Res.* **2008**, *8*, 967.
- (108) Ryzewski, C. N.; Pietruszko, R. *Biochemistry* **1980**, *19*, 4843.
- (109) Eklund, H.; Plapp, B. V.; Samama, J. P.; Branden, C. I. *J. Biol. Chem.* **1982**, *257*, 14349.
- (110) Cedergren-Zeppezauer, E. *Biochemistry* **1983**, *22*, 5761.
- (111) Dahl, K. H.; Eklund, H.; McKinley-McKee, J. S. *Biochem. J.* **1983**, *211*, 391.
- (112) Eklund, H. *Pharmacol. Biochem.* **1983**, *18*, 73.
- (113) Foucaud, B.; Biellmann, J. F. *Biochim. Biophys. Acta* **1983**, *748*, 362.
- (114) Jones, J. B. *Ciba Found Symp.* **1985**, *111*, 3.
- (115) Eklund, H. *Biochem. Soc. Trans.* **1989**, *17*, 293.
- (116) Plapp, B. V. *Arch. Biochem. Biophys.* **2010**, *493*, 3.
- (117) Eklund, H.; Ramaswamy, S. *Cell Mol. Life Sci.* **2008**, *65*, 3907.
- (118) Olofsson, L.; Nicholls, I. A.; Wikman, S. *Org. Biomol. Chem.* **2005**, *3*, 750.
- (119) Jonsson, A.; Wehtje, E.; Adlercreutz, P.; Mattiasson, B. *Protein Struct.* **1999**, *1430*, 313.
- (120) Peretz, M.; Bogin, O.; TelOr, S.; Cohen, A.; Li, G. S.; Chen, J. S.; Burstein, Y. *Anaerob.* **1997**, *3*, 259.
- (121) Ford, J. B.; Askins, K. J.; Taylor, K. B. *Biotechnol. Bioeng.* **1993**, *42*, 367.
- (122) Peretz, M.; Burstein, Y. *Biochemistry* **1989**, *28*, 6549.
- (123) Hoffmann, F.; Maser, E. *Drug Metab. Rev.* **2007**, *39*, 87.
- (124) Zhang, R. Z.; Xu, Y.; Sun, Y.; Zhang, W. C.; Xiao, R. *Appl. Environ. Microbiol.* **2009**, *75*, 2176.
- (125) Zhang, R. Z.; Zhu, G. Y.; Zhang, W. C.; Cao, S.; Ou, X. J.; Li, X. M.; Bartlam, M.; Xu, Y.; Zhang, X. C.; Rao, Z. H. *Protein Sci.* **2008**, *17*, 1412.
- (126) Nie, Y.; Xu, Y.; Mu, X. Q.; Wang, H. Y.; Yang, M.; Xiao, R. *Appl. Environ. Microbiol.* **2007**, *73*, 3759.
- (127) Yamamoto, H.; Kawada, K.; Matsuyama, A.; Kobayashi, Y. *Biosci. Biotech. Biochem.* **1999**, *63*, 1051.
- (128) Peters, J.; Minuth, T.; Kula, M. R. *Enzyme. Microb. Tech.* **1993**, *15*, 950.
- (129) Jaeger, E. *Methods Enzymol.* **1988**, *161*, 301.
- (130) Ludwig, B.; Akundi, A.; Kendall, K. *Appl. Environ. Microb.* **1995**, *61*, 3729.
- (131) Nagy, I.; De Mot, R. *DNA Sequence* **1999**, *10*, 61.
- (132) Schenkels, P.; Duine, J. A. *Microbiol. Sgm.* **2000**, *146*, 775.
- (133) Abokitse, K.; Hummel, W. *Appl. Microbiol. Biot.* **2003**, *62*, 380.
- (134) Bradshaw, C. W.; Hummel, W.; Wong, C. H. *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 1532.
- (135) Kroutil, W.; Mang, H.; Edegger, K.; Faber, K. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2004**, *8*, 120.
- (136) Chen, Q.; Hu, Y.; Zhao, W.; Zhu, C.; Zhu, B. *Appl. Biochem. Biotech.* **2010**, *160*, 19.
- (137) Weckbecker, A.; Hummel, W. *Biocatal. Biotransform.* **2006**, *24*, 380.
- (138) Hildebrandt, P.; Riermeier, T.; Altenbuchner, J.; Bornscheuer, U.; *Tetrahedron: Asymmetry* **2001**, *12*, 1207.
- (139) Fantini, G.; Fogagnolo, M.; Giovannini, P. P.; Medici, A.; Pedrini, P.; Gardini, F.; Lanciotti, R. *Tetrahedron* **1996**, *52*, 3547.
- (140) Britt, A. J.; Bruce, N. C.; Lowe, C. R. *FEMS Microbiol. Lett.* **1992**, *72*, 49.
- (141) Gröger, H.; Borchert, S.; Krauber, M.; Hummel, W. In *Encyclopedia of Industrial Biotechnology: Bioprocess, Bioseparation, and Cell Technology*; Flickinger, M. C., Ed.; John Wiley and Sons, Inc.: 2010.
- (142) Goldberg, K.; Schroer, K.; Lutz, S.; Liese, A. *Appl. Microbiol. Biot.* **2007**, *76*, 237.
- (143) Drauz, K.; Waldmann, H. *Enzyme catalysis in organic synthesis*; 2nd ed.; Wiley-VCH, 2002.
- (144) Moore, J. C.; Pollard, D. J.; Kosjek, B.; Devine, P. N. *Acc. Chem. Res.* **2007**, *40*, 1412.

- (145) Carballeira, J. D.; Quezada, M. A.; Hoyos, P.; Simeó, Y.; Hernaiz, M. J.; Alcantara, A. R.; Sinisterra, J. V. *Biotechnol. Adv.* **2009**, *27*, 686.
- (146) Besse, P.; Bolte, J.; Fauve, A.; Veschambre, H. *Bioorg. Chem.* **1993**, *21*, 342.
- (147) Matsuda, T.; Harada, T.; Nakajima, N.; Nakamura, K. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 4135.
- (148) Matsuda, T.; Harada, T.; Nakajima, N.; Itoh, T.; Nakamura, K. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 157.
- (149) Presecki, A. V.; Findrik, Z.; Zelic, B. *Chem. Biochem. Eng.* **2006**, *20*, 227.
- (150) Martinez, F.; Del Campo, C.; Sinisterra, J. V.; Llama, E. F. *Tetrahedron: Asymmetry* **2000**, *11*, 4651.
- (151) Soni, P.; Banerjee, U. C. *Appl. Microbiol. Biot.* **2005**, *67*, 771.
- (152) Ernst, M.; Kaup, B.; Muller, M.; Bringer-Meyer, S.; Sahm, H. *Appl. Microbiol. Biot.* **2005**, *66*, 629.
- (153) Heuser, F.; Schroer, K.; Lutz, S.; Bringer-Meyer, S.; Sahm, H. *Eng. Life Sci.* **2007**, *7*, 343.
- (154) Marques, M. P. C.; Carvalho, F.; Magalhaes, S.; Cabral, J. M. S.; Fernandes, P. *Process Biochem.* **2009**, *44*, 556.
- (155) Nie, Y.; Xu, Y.; Hu, Q. S.; Xiao, R. *J. Microbiol. Biotechnol.* **2009**, *19*, 65.
- (156) Barbieri, C.; Caruso, E.; D'Arrigo, P.; Fantoni, G. P.; Servi, S. *Tetrahedron: Asymmetry* **1999**, *10*, 3931.
- (157) Kaluzna, I.; Andrew, A. A.; Bonilla, M.; Martzen, M. R.; Stewart, J. D. *J. Mol. Catal. B: Enzym.* **2002**, *17*, 101.
- (158) Rodriguez, J. D. C.; Garcia-Burgos, C.; Alvarez, M. A. Q.; Ruiz, E. A.; Sinisterra Gago, J. V. S. *Biotechnol. Bioeng.* **2004**, *87*, 632.
- (159) Zhang, W.; O'Connor, K.; Wang, D. I. C.; Li, Z. *Appl. Environ. Microbiol.* **2009**, *75*, 687.
- (160) Hoyos, P.; Sansottera, G.; Fernández, M.; Molinari, F.; Sinisterra, J. V.; Alcántara, A. R. *Tetrahedron* **2008**, *64*, 7929.
- (161) Sheldon, R. A.; Arends, I.; Hanefeld, U. Catalytic reductions. In *Green Chemistry and Catalysis*; Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA: Weinheim, 2007; p 91.
- (162) Faber, K. *Biotransformations in Organic Chemistry. A textbook*; 5th ed.; Springer-Verlag: Berlin Heidelberg, 2004.
- (163) Sheldon, R. A. *Green Chem.* **2007**, *9*, 1273.
- (164) Sheldon, R. A. *Chem. Commun.* **2008**, 3352.
- (165) Prelog, V. *Pure Appl. Chem.* **1964**, *9*, 119.
- (166) Prelog, V. *Croat. Chem. Acta* **2006**, *79*, 49.
- (167) Berenguer-Murcia, A.; Fernandez-Lafuente, R. *Curr. Org. Chem.* **2010**, *14*, 1000.
- (168) Hussain, W.; Pollard, D. J.; Truppo, M.; Lye, G. J. *J. Mol. Catal. B: Enzym.* **2008**, *55*, 19.
- (169) Liu, W. F.; Wang, P. *Biotechnol. Adv.* **2007**, *25*, 369.
- (170) Wichmann, R.; Vasic-Racki, D. *Adv. Biochem. Eng. Biot.* **2005**, *92*, 225.
- (171) Adlercreutz, P. *Biocatal. Biotransform.* **1996**, *14*, 1.
- (172) Goldberg, K.; Edegger, K.; Kroutil, W.; Liese, A. *Biotechnol. Bioeng.* **2006**, *95*, 192.
- (173) Schroer, K.; Tacha, E.; Lutz, S. *Org. Proc. Res. Dev.* **2007**, *11*, 836.
- (174) Lavandera, I.; Holler, B.; Kern, A.; Ellmer, U.; Glieder, A.; de Wildeman, S.; Kroutil, W. *Tetrahedron: Asymmetry* **2008**, *19*, 1954.
- (175) Lavandera, I.; Kern, A.; Ferreira-Silva, B.; Glieder, A.; de Wildeman, S.; Kroutil, W. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 6003.
- (176) Wallner, S. R.; Lavandera, I.; Mayer, S. F.; Öhrlein, R.; Hafner, A.; Edegger, K.; Faber, K.; Kroutil, W. *J. Mol. Catal. B: Enzym.* **2008**, *55*, 126.
- (177) Wandrey, C. *Chem. Rec.* **2004**, *4*, 254.
- (178) Tishkov, V. I.; Popov, V. O. *Biomol. Eng.* **2006**, *23*, 89.
- (179) Blank, L. M.; Ebert, B. E.; Buhler, B.; Schmid, A. *Biotechnol. Bioeng.* **2008**, *100*, 1050.

- (180) Schroer, K.; Mackfeld, U.; Tana, I. A. W.; Wandrey, C.; Heuser, F.; Bringer-Meyer, S.; Weckbecker, A.; Hummel, W.; Daussmann, T.; Pfaller, R.; Liese, A.; Lutz, S. *J. Biotechnol.* **2007**, *132*, 438.
- (181) Goldberg, K.; Schroer, K.; Lutz, S.; Liese, A. *Appl. Microbiol. Biot.* **2007**, *76*, 249.
- (182) Vrtis, J. M.; White, A. K.; Metcalf, W. W.; Donk, W. A. v. d. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 3257.
- (183) Relyea, H. A.; van der Donk, W. A. *Bioorg. Chem.* **2005**, *33*, 171.
- (184) Johannes, T. W.; Woodyer, R. D.; Zhao, H. *Biotechnol. Bioeng.* **2007**, *96*, 18.
- (185) *Enzymes in Synthetic Organic Chemistry*; Wong, C. H.; Whitesides, G. M., Eds.; Pergamon: Trowbridge, 1994.
- (186) Leonida, M. D. *Curr. Med. Chem.* **2001**, *8*, 345.
- (187) Nakamura, K.; Yamanaka, R.; Matsuda, T.; Harada, T. *Tetrahedron: Asymmetry* **2003**, *14*, 2659.
- (188) Matsuda, T.; Yamanaka, R.; Nakamura, K. *Tetrahedron: Asymmetry* **2009**, *20*, 513.

2. OBJETIVOS

2. Objetivos

El primer objetivo que se pretende alcanzar en la presente Tesis Doctoral es el desarrollo de una estrategia sintética para la obtención de estructuras tipo 1-halo-3-arilaminopropan-2-onas que, a pesar de su simplicidad estructural, hasta la fecha no han sido descritas en la bibliografía. Tal y como se ha podido comprobar en la Introducción de la presente memoria, las correspondientes 1-halo-3-alquilamino cetonas análogas han sido objeto de intensos estudios puesto que estos sintones representan intermedios proquirales muy versátiles para la preparación de inhibidores de la proteasa del VIH. De manera paralela, también se ha descrito, a través de procedimientos convencionales, la síntesis de estructuras isósteras que presentan estructuras tipo ariloxi o arilmercapto en lugar de la función arilamínica.

Bajo otra perspectiva, es de destacar el alto nivel de funcionalización que presentan nuestros compuestos diana, constituidos por un esqueleto carbonado de tan solo tres unidades, de las cuales dos muy electrofilicas (el carbono carbonílico y el metileno del halógeno), por lo que representan estructuras en las cuales es fácil de prever la existencia de problemas de tipo regioquímico. Más aún, los efectos mesómeros relacionados a la presencia de la función arilamínica activada introducen un posterior elemento de complejidad, tanto en lo que concierne la síntesis como en lo que atañe a su potencial reactividad.

A la luz de lo antes expuesto, como primer paso se procederá a evaluar la posibilidad de aplicar a nuestras moléculas objetivo las estrategias sintéticas descritas para las correspondientes 1-halo-3-alquilaminopropan-2-onas. Para ello, se han individuado cinco posibles estrategias sintéticas basadas en: 1) hidrólisis oxidativa de cloruros vinílicos; 2) oxidación de los correspondientes alcoholes tipo 1-cloro-3-arilamino-propan-2-oles, sustratos sencillos de obtener mediante procedimientos ampliamente descritos, usada para la preparación de los isósteros tipo ariloxi; 3) preparación mediante la síntesis de Arndt-Eistert; 4) preparación mediante reacciones de homologación con carbenóides de litio; 4) reacción mediante el desplazamiento nucleofílico sobre un sustrato comercialmente disponible, la 1,3-dicloroacetona, empleado con éxito para la síntesis del isóster 1-cloro-3-feniltiopropán-2-ona.

Una vez encontrada una estrategia que permita la síntesis de estos compuestos con distinto grado de funcionalización a nivel de la parte aromática, es imprescindible estudiar su reactividad con particular enfoque a la posibilidad de efectuar reducciones estereoselectivas del carbonilo. Dentro del Grupo de Investigación en el que se ha desarrollado la presente Tesis se han estudiado extensivamente procesos catalíticos de reducción de halocarbonilos a halohidrinas enantioméricamente puras mediante el uso de enzimas o células. Normalmente, el protocolo seguido para llevar a cabo dichas reducciones prevé un proceso de “*screening*” de distintas alcohol-deshidrogenasas (ADHs) para identificar el microorganismo que proporciona la ADH con mejores conversiones y excesos enantioméricos hacia un determinado tipo de compuestos proquirales. Sin embargo, en este trabajo se ha preferido un enfoque alternativo, basado en un estudio predictivo basado en estudios de modelado molecular. Para ello, se pretende evaluar la posibilidad de predecir y estimar a nivel cuantitativo la posible bioreducción mediante estudios de “*docking*” y dinámicas moleculares entre los dos posibles alcoholes quirales formados de la reducción de las cetonas en objeto con la ADH de un nuevo microorganismo descrito para la reducción de cetonas proquirales, es decir el *Thermus thermophilus*.

Posteriormente, se estudiará la posibilidad de emplear los alcoholes quirales derivados de la eventual reducción biocatalítica en procesos de síntesis de estructuras dotadas de actividad biológica. En este sentido, el análisis retrosintético del Linezolid (**IXb**), indica que el (2*R*)-1-cloro-3-amilaminopropan-2-ol puede ser un precursor quiral para su síntesis. De tal manera que, si se confirmara la predicción del estudio de modelado molecular de bioreducción se dispondría de una novedosa estrategia sintética para la síntesis de dicho antibacteriano. Evidentemente el β-amilaminoalcohol, al presentar dos grupos potencialmente nucleófilos como son la amina y el hidroxilo, precisa para su posterior funcionalización la optimización de las condiciones de reacción que proporcionen los resultados mejores en términos de regio- y quimioselectividad.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN INTEGRADORA

3. Resultados y Discusión Integradora

3.1. Introducción

Los resultados que se presentan en esta Tesis Doctoral se han publicado en revistas internacionales indexadas y se numeran a continuación mediante el uso de números Romanos (I-X). En todas las publicaciones que a continuación se detallan, el Autor de la presente Tesis Doctoral es el Primer Autor.

- I. Pace, V.; Martínez, F.; Fernández, M.; Sinisterra, J. V.; Alcántara, A. R. "Effective Monoallylation of Anilines Catalyzed by Supported KF" *Org. Lett.* **2007**, 9, 2661-2664.
<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ol070890o>
- II. Pace, V.; Martínez, F.; Fernández, M.; Nova, C. I.; Sinisterra, J. V.; Alcántara, A. R. "Efficient Horner-Wadsworth-Emmons intramolecular cyclisation of a *N*-substituted phthalimide promoted by KF-Alumina: a general tool for the synthesis of functionalized isoindolinones" *Tetrahedron Lett.* **2009**, 50, 3050-3053.
http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6THS-4W2NDMG-8&_user=10&_coverDate=06%2F24%2F2009&_rdoc=1&_fmt=high&_orig=search&_origin=search&_sort=d&_docanchor=&_view=c&_searchStrId=1549968806&_rerunOrigin=google&_acct=C000050221&_version=1&_urlVersion=0&_userid=10&md5=a285da4bd45670df086d7e95c9b74671&searchtype=a
- III. Pace, V.; Hoyos, P.; Fernández, M.; Sinisterra, J. V.; Alcántara, A. R. "2-Methyltetrahydrofuran as a suitable green solvent for phthalimide functionalization promoted by supported KF." *Green Chem.* **2010**, 12, 1380-1382.
<http://pubs.rsc.org/en/Content/ArticleLanding/2010/GC/c0gc00113a>
- IV. Pace, V.; Martínez, F.; Fernández, M.; Sinisterra, J. V.; Alcántara, A. R. "Highly Efficient Synthesis of New α -Arylamino- α' -chloropropan-2-ones via Oxidative Hydrolysis of Vinyl Chlorides Promoted by Calcium Hypochlorite" *Adv. Synth. Cat.* **2009**, 351, 3199-3206.
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/adsc.200900565/abstract>
- V. Pace, V.; Cortés-Cabrera, A.; Fernández, M.; Sinisterra, J. V.; Alcántara, A. R. "First General Synthetic Route to Substituted α -chloro- α' -arylamino-propan-2-ones by Oxidation of the Corresponding *N*-protected Aminohalohydrins: The Importance of Disrupting H-bond Networks" *Synthesis* **2010**, 3545-3555.
<http://www.thieme-connect.com/ejournals/abstract/synthesis/doi/10.1055/s-0030-1257938>
- VI. Pace, V.; Verniest, G.; Sinisterra, J. V.; Alcántara, A. R.; De Kimpe, N. "Improved Arndt-Eistert Synthesis of α -Diazoketones Requiring Minimal Diazomethane in the Presence of Calcium Oxide as Acid Scavenger" *J. Org. Chem.* **2010**, 75, 5760-5763.
<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jo101105g?journalCode=joceah&quickLinkVolume=75&quickLinkPage=5760&volume=75>

- VII. Pace, V.; Cortés-Cabrera, A.; Ferrario, V.; Sinisterra, J. V.; Ebert, C.; Gardossi, L.; Braiuca, P.; Alcántara, A. R. "Structural Bases for Understanding the Stereoselectivity in Ketones Reductions with ADH from *Thermus thermophilus*: A Quantitative Model." *J. Mol. Cat. B: Enzym.* **2011**, en prensa, Ref. MOLCAB-D-10-00221.
http://www.elsevier.com/wps/find/journaldescription.cws_home/525211/
- VIII. Pace, V. "1,3-dichloroacetone" *Synlett* **2010**, 2825-2826.
<http://www.thieme-connect.com/ejournals/pdf/synlett/doi/10.1055/s-0030-1259002.pdf>
- IX. Pace, V.; Sinisterra, J. V.; Alcántara, A. R. "Celite-Supported Reagents in Organic Synthesis: An Overview" *Curr. Org. Chem.* **2010**, *14*, 2384-2408.
<http://www.benthamdirect.org/pages/content.php?COC/2010/00000014/00000020/0003D.SGM>
- X. Pace, V.; Sinisterra, J. V.; Alcántara, A. R., "Potassium Fluoride-Celite" Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis [online], Paquette, L.; John Wiley & Sons Ltd.: New York, 2009 DOI: 10.1002/047084289X.rp216.pub2.
http://onlinelibrary.wiley.com/o/eros/articles/rp216/pdf_fs.html

3.2. Síntesis de estructuras tipo 3-amilamino-1-cloropropan-2-ona mediante hidrólisis oxidativa de cloruros vinílicos.

Tal y como se comentó en el Capítulo de Introducción, a pesar de su simplicidad estructural, no se recogen en la bibliografía metodologías sintéticas para la preparación de sistemas tipo 3-amilamino-2-cloropropan-2-ona (**XXV**). (Figura 3.1) Sin embargo, debido a la utilidad clínica¹ de derivados de las correspondientes 3-alquilamino-2-halopropan-2-onas, **XXXIII**, sí se conocen distintos procedimientos sintéticos para su obtención.²

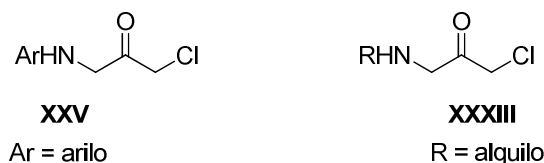
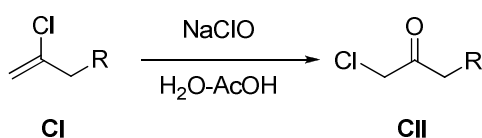


Figura 3.1. Estructuras de 3-amilamino-1-cloropropan-2-onas (**XXV**) y 3-alquilamino-1-cloropropan-2-onas (**XXXIII**).

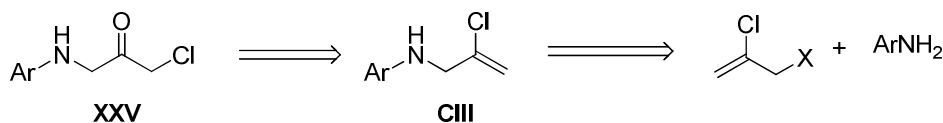
En su mayoría, estos métodos se basan en reacciones de homologación de derivados de ácidos carboxílicos (cloruros, ésteres o amidas de Weinreb) utilizando carbenóides como diazometano o derivados del halometilitio. A pesar de su indiscutible versatilidad sintética, estas técnicas presentan bastantes problemas en cuanto a su aplicación a nivel práctico, puesto que, por ejemplo, se requieren bajas temperaturas (-78°C)³ para la formación y el uso de los carbenóides de litio, lo cual ciertamente constituye un problema de gran relevancia a la hora de efectuar escalados de los procesos. Más aún, el uso de diazometano a gran escala es prohibitivo debido al potencial explosivo y tóxico del mismo reactivo.^{4,5}

A la vista de estas consideraciones, dado que nuestro interés era la síntesis de sistemas tipo 3-amilamino-2-halopropan-2-ona (**XXV**) decidimos desarrollar una metodología en la que no intervinieran estos reactivos tan complejos de manejar. Para ello, consideramos aplicable un protocolo recientemente descrito por Weinreb y cols.,⁶ basado en la hidrólisis oxidativa de un cloruro vinílico **CI** adecuado a la correspondiente α -clorocetona **CII**. (Esquema 3.1)



Esquema 3.1. Hidrólisis oxidativa de un cloruro de vinilo a la correspondiente α -clorocetona mediante hipoclorito sódico.

Evidentemente, de acuerdo con el análisis retrosintético representado en el esquema 3.2, los cloruros vinílicos que en nuestro caso hubiesen llevado a compuestos tipo **XXV** deberían tener una estructura tipo 2-(cloroalil)anilina, **CIII**, derivada a su vez de la monoalquilación del nitrógeno de una amina aromática con un haluro de alilo.



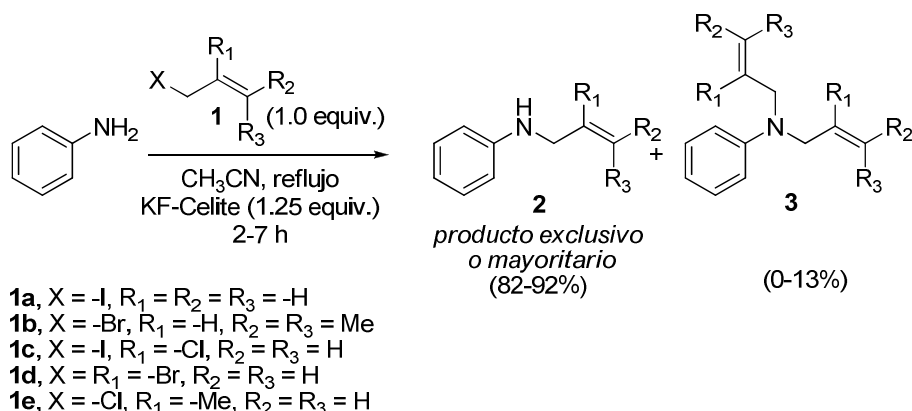
Esquema 3.2. Análisis retrosintético para la obtención de **XXV** a partir de *N*-monoalililaminas.

3.2.1. Síntesis quimioselectiva de las alilaminas de partida en presencia de fluoruro potásico soportado sobre Celita.

Como paso previo a la transformación de los cloruros vinílicos en α -clorocetonas, es evidente que se precisa una metodología sintética rápida y sencilla para la monoalilación del átomo de nitrógeno de la anilina. Las alilaminas, a pesar de constituir una clase de intermedios muy versátiles en síntesis orgánica,⁷ son compuestos difíciles de preparar en términos de quimioselectividad, puesto que la simple reacción de alilación de un átomo de nitrógeno por parte de un agente electrófilo se ve dificultada por los procesos concomitantes de polialilación.⁸ Normalmente, para resolver este tipo de inconvenientes se recurre al uso de un exceso de amina con respecto al electrófilo.

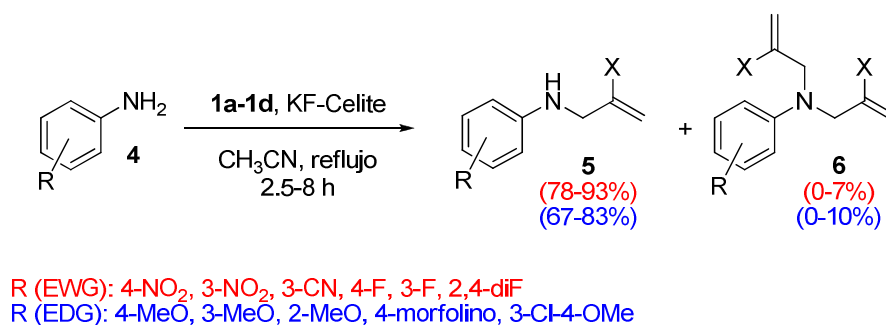
En el **Paper I**, se detalla un procedimiento para la alilación de anilinas mediante haluros de alilo (**1**) en presencia de un reactivo básico soportado, el fluoruro potásico sobre Celite, empleando un ligero exceso de anilina (1.2 equiv. anilina vs. 1.0 equiv. electrófilo).

El estudio de las condiciones de reacción ha permitido establecer que los mejores resultados, tanto en términos de rendimiento como de quimioselectividad, se obtienen empleando acetonitrilo como disolvente a su temperatura de reflujo (83°C). Entre los factores que determinan el curso quimioselectivo de la reacción, hay que destacar el impedimento estérico del sustituyente en la posición vecinal al átomo del halógeno saliente, obteniéndose la reducción progresiva del producto secundario **3** de dialilación a medida de que aumenta el tamaño de dicho sustituyente. (Esquema 3.3)



Esquema 3.3. Protocolo de monoalilación quimioselectiva de anilinas mediante haluros de alilo en presencia de KF-Celite.

Como demostración de que el fluoruro potásico actúa como base, resaltaremos que, en el caso de reacciones con aminas sustituidas con diferentes grupos en el anillo aromático, los mejores resultados en términos de rendimiento, quimioselectividad y tiempo de reacción se observan para aquellas anilinas que presentan sustituyentes atractores de electrones (**4**). Sin embargo, la presencia de sustituyentes en la posición *orto* respecto al grupo amino capaces de formar enlaces de hidrógeno con los protones amínicos, dificulta de manera considerable la alilación con consiguiente aumento de los tiempos de reacción, o incluso de pérdida total de reactividad en el caso del grupo 2-nitro en dicha posición. (Esquema 3.4)

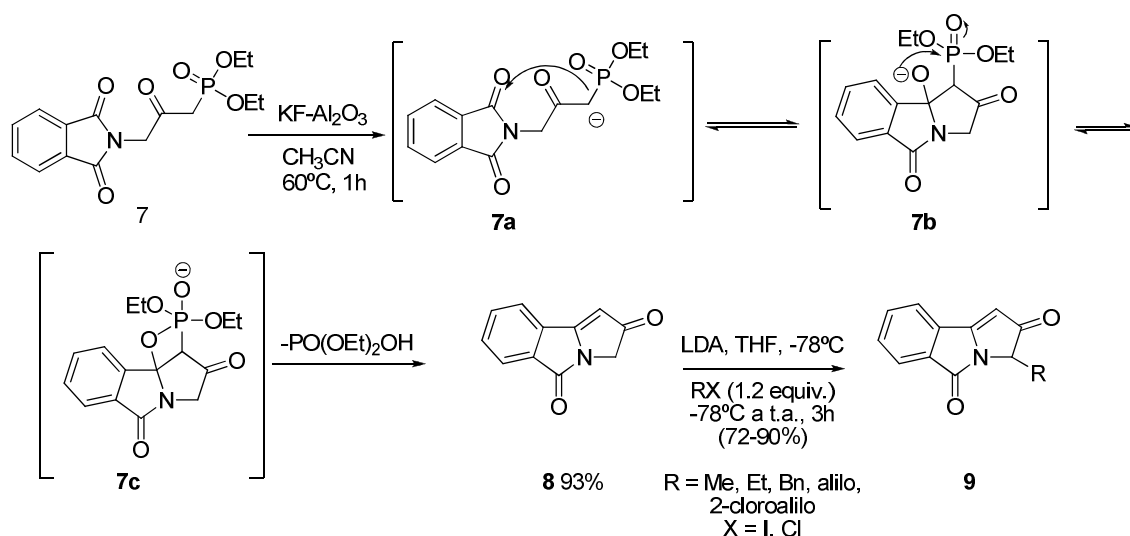


Esquema 3.4. *N*-alilación quimioselectiva de anilinas sustituidas.

En general, la alilación de anilinas que presentan grupos donadores de electrones en el anillo aromático procede con rendimientos altos, aunque algo menores con respecto a las anilinas sustituidas con grupos atractores de electrones debido a la mayor acidez de estas últimas. De todas formas, es importante remarcar que el proceso desarrollado permite minimizar e incluso, en algunos casos, eliminar completamente la formación del producto secundario de dialilación **6**, con lo cual se demuestra la gran versatilidad sintética que presenta el protocolo propuesto. En el **Paper IX** y en el **Paper X** se recoge una panorámica amplia del uso de este reactivo soportado en Síntesis Orgánica, así como la evidencia de que los fluoruros alcalinos, en general, actúan como reactivos en condiciones estequiométricas y no como catalizadores (como sugeriría el título del **Paper I**, “aconsejado” por un referee anónimo).

3.2.2. Empleo de fluoruro potásico soportado en reacciones de ciclación tipo Horner-Wadsworth-Emmons.

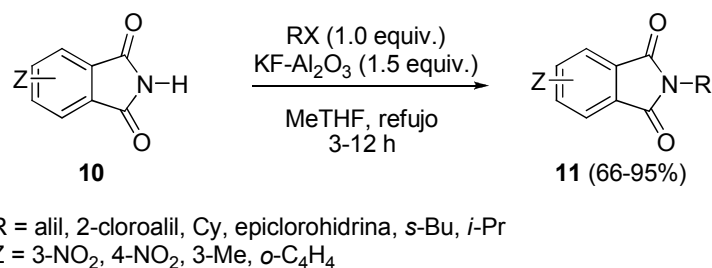
A la vista de los buenos resultados que han derivado del empleo del fluoruro de potasio soportado como base heterogénea, se ha explorado la posibilidad de su uso en reacciones de ciclación intramolecular de derivados de la ftalimida *N*-sustituida, según un mecanismo tipo Horner-Wadsworth-Emmons.⁹ (**Paper II**) En este caso, resultó eficaz emplear un soporte más básico,¹⁰ como la alúmina para promover la obtención formal del iluro correspondiente al β-oxofosfonato **7**. Es de señalar la falta completa de reactividad observada empleando KF-Celite u otras bases comunes en síntesis orgánica (KF no soportado, NaH, NaOMe). En definitiva, el uso de KF-Alúmina sobre un sistema tipo β-oxofosfonato permite lograr la síntesis de manera rápida de una estructura isoindolinónica α,β-insaturadas tipo **8**. Posteriormente, mediante un protocolo Stork-Danheiser,¹¹ es posible funcionalizar la posición α' de la cetona con distintos agentes alquilantes, obteniéndose estructuras tipo **9**. (Esquema 3.5)



Esquema 3.5. Empleo de KF-Alúmina en reacciones tipo Horner-Wadsworth-Emmons para la síntesis de isoindolinonas y posterior funcionalización de la vecinal al carbonilo.

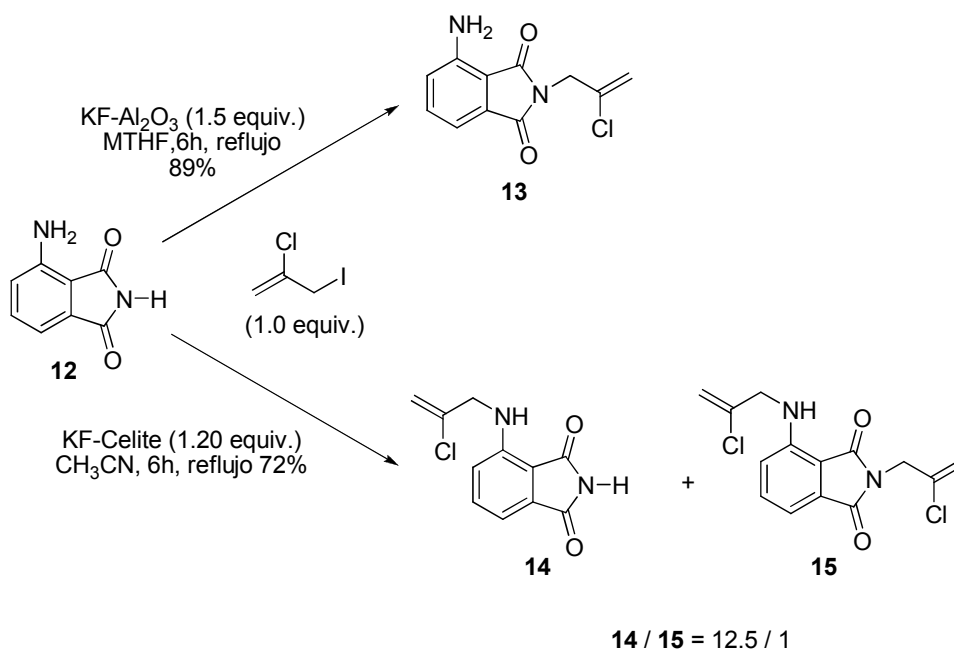
3.2.3. Empleo de fluoruro potásico soportado en reacciones de funcionalización de derivados de la ftalimida.

Como consecuencia del trabajo arriba delineado, se ha desarrollado un nuevo protocolo para la funcionalización del átomo de nitrógeno de una serie de ftalimidias (, usando el mismo KF-Alúmina en un disolvente procedente de fuentes renovables, como es el 2-metiltetrahydrofurano (MeTHF). (**Paper III**). Es de destacar la eficacia de este sistema tanto en la alquilación del nitrógeno de ftalimidias diferentemente sustituidas **10** mediante haluros de alquilo primarios o alílicos, como en reacciones con haluros secundarios, que con otras metodologías han llevado a productos de eliminación.¹²



Esquema 3.6. Funcionalización del nitrógeno de las ftalimidias mediante distintos electrófilos empleando KF-Alumina como base en MeTHF.

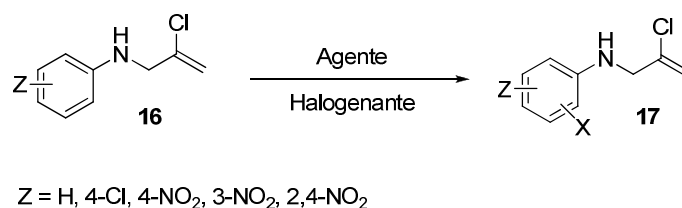
El fluoruro de potasio ha mostrado un comportamiento relacionado a la naturaleza del soporte y del disolvente empleado para la reacción, pudiéndose encontrar las condiciones que permiten llevar a cabo reacciones de alquilación de manera regioselectiva. De hecho, se ha visto que el sistema KF-Alúmina-MeTHF, en presencia de un grupo amino sobre el anillo aromático de la ftalimida (**12**), es capaz de promover exclusivamente la funcionalización del nitrógeno imídico llevando a la estructura (**13**); por otra parte, el KF-Celite en acetonitrilo lleva de manera altamente regioselectiva a la funcionalización del nitrógeno arilamínico, obteniéndose de forma mayoritaria la estructura **14**.



Esquema 3.7. Complementariedad del uso de KF-Celite y KF-Alumina en reacciones de *N*-funcionalización.

3.2.4. Hidólisis oxidativa de cloruros de vinilo para la obtención de 3-amilamino-1-cloropropan-2-onas.

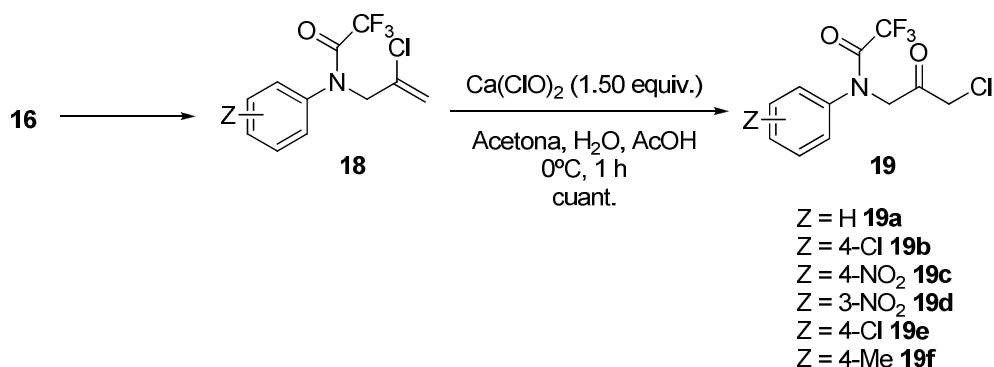
Una vez concluido el estudio sobre la aplicación del fluoruro potásico soportado, nos dirigimos al principal objetivo de esta Tesis Doctoral, es decir la síntesis de estructuras de tipo α -cloro- α' -amilaminopropan-2-onas. Tal y como se mencionó en el apartado 3.2, se decidió usar la reacción de hidrólisis oxidativa de cloruros vinílicos mediante hipoclorito sódico. Evidentemente, esta ruta sintética presenta claras ventajas en términos de simplicidad de las condiciones de reacción requeridas (hipohalito y ácido acético), con respecto a las empleadas para las reacciones con diazometano o con los carbenóides de litio. Para ello, aplicando las mismas condiciones de Weinreb,⁶ solo se pudo comprobar la halogenación del anillo aromático de las estructuras tipo **16** (incluso en aquellos casos de derivados que presentaban grupos desactivantes), sin que ocurriese modificación alguna a la parte vinílica (estructura **17**, esquema 3.8). En particular, se observó que las reacciones llevadas a cabo mediante hipoclorito de calcio proporcionaban cantidades inferiores de productos de halogenación aromática con respecto a los obtenidos con agentes halogenantes como NCS, NBS, NIS o NaClO. (**Paper IV**).



Esquema 3.8. Halogenación de *N*-(2-cloroalil)anilinas en presencia de agentes halogenantes.

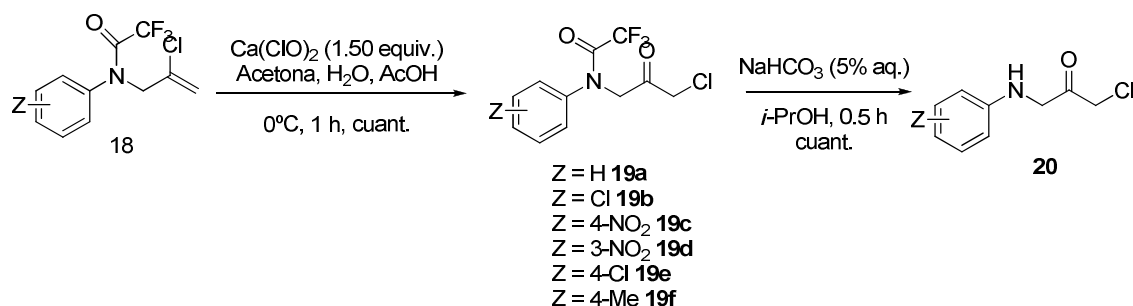
Este hecho se interpretó considerando la activación que confiere al anillo aromático el par de electrones del nitrógeno de la anilina, con lo cual se evaluó el efecto de distintos grupos

protectores del nitrógeno. El uso de un carbamato (como el Boc) o de una amida (como la acetamida) resolvían el problema sólo marginalmente, puesto que la halogenación a nivel del anillo aromático continuaba siendo una reacción secundaria; finalmente, el uso del grupo trifluoroacetilo como grupo protector de aminas aromáticas, **18**, muy fácil de introducir, permitió promover la reacción hacia la efectiva hidrólisis oxidativa de la función vinílica con obtención de las estructuras (**19**). (Esquema 3.9)



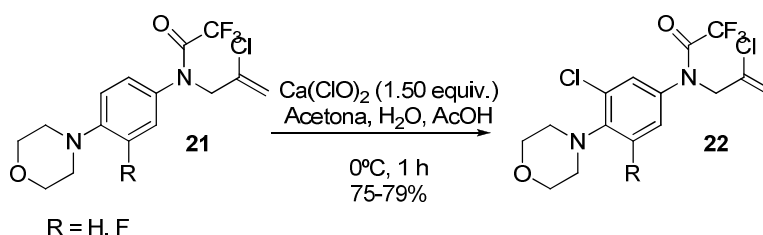
Esquema 3.9. Hidrólisis oxidativa de anilinas protegidas con un grupo *N*-trifluoroacetilo.

Es interesante remarcar también la facilidad de eliminación de este grupo protector, por simple tratamiento en medio básico diluido (NaHCO₃ 5%), que nos condujo a considerar la posibilidad de eliminar el grupo protector directamente en el medio de reacción: efectivamente, al tratar la mezcla de reacción que contiene el compuesto **19** con bicarbonato sódico al 5% en presencia de *iso*-propanol se obtuvieron cuantitativamente las cetonas deseadas **20a-e**, sin necesidad de aislar los correspondientes productos trifluoroacetilatos **19a-e**. (Esquema 3.10)



Esquema 3.10. Hidrólisis oxidativa de cloruros vinílicos *N*-protegidos y eliminación *in situ* del grupo protector.

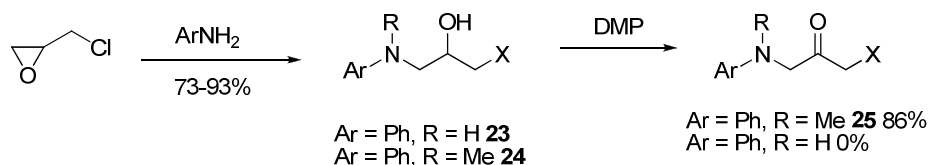
Sin embargo, al tratar un cloruro de vinilo que presenta un sustituyente de tipo amínico a nivel del anillo aromático tal y como se recoge en el Esquema 3.11 para las estructuras **21**, a pesar de que el átomo de nitrógeno directamente enlazado a la función vinílica esté protegido como trifluoroacetilo, se observa la cloración en la posición vecinal al átomo de nitrógeno no protegido con este grupo protector, obteniéndose las estructuras **22**. Este resultado demostró, por lo tanto, la imposibilidad de aplicar esta estrategia a sistemas que presentan una activación a nivel de la parte aromática.



Esquema 3.11. Cloración de la posición vecinal a un átomo de nitrógeno que no se encuentra protegido como trifluoroacetilo.

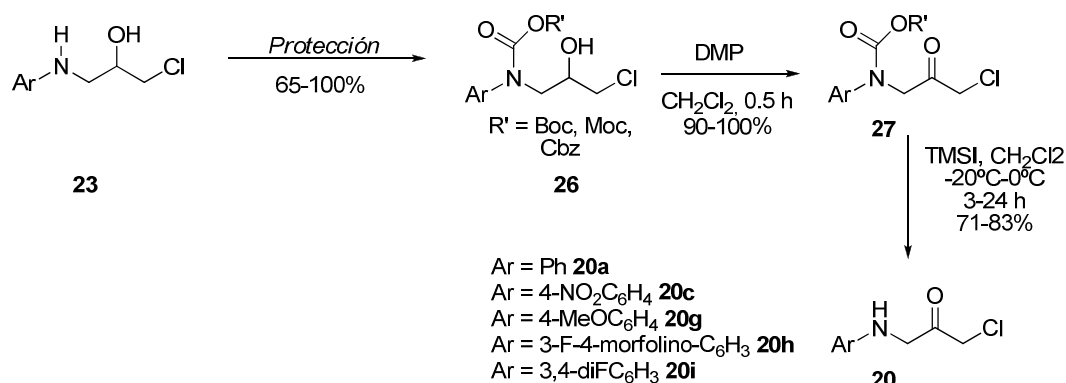
3.3. Síntesis de 1-cloro-3-arilaminopropan-2-onas mediante oxidación directa de las correspondientes aminohalohidrinan *N*-protegidas.

Al considerar que la preparación de los 1-cloro-3-arilaminopropan-2-oles se lleva a cabo de manera sencilla de acuerdo con metodologías descritas¹³ a partir de las epíclorohidrinan y aminas aromáticas, decidimos intentar la oxidación directa de estructuras tipo **23** y comprobamos que a pesar del oxidante empleado, se podían distinguir dos casos: 1) si la amina aromática era de tipo secundaria (N-H), no se observaba oxidación; mientras que, 2) en presencia de una amina terciaria (N-Me) el alcohol se transformaba con altos rendimientos en el compuesto carbonílico. (**Paper V**) Consideramos que la falta de reactividad observada en presencia de una amina secundaria se pudiese relacionar a la presencia de enlaces de hidrógeno inter e intra moleculares; efectivamente, tanto un estudio de dinámicas moleculares como un estudio de espectroscopía IR, revelaron la posible existencia de dichos enlaces de hidrógeno. En particular, de acuerdo con los resultados de las dinámicas, el aminoalcohol **23** parece formar agregados de moléculas que presentan redes de enlaces de hidrógeno entre el grupo amino de una molécula y el grupo hidroxilo de otra. Por contrario, la presencia de un grupo tipo N-Me en la estructura **24** impide la formación de estas redes. (Esquema 3.12)



Esquema 3.12. Intentos de oxidación de un aminoalcohol terciario **24** y de uno secundario **23**.

Una vez aclarado este hecho, se procedió a proteger de manera regioselectiva la función amínica mediante distintos grupos protectores, como Boc, Cbz y Moc y efectivamente se pudo comprobar que los aminoalcoholes **26** así obtenidos se han podido oxidar a las correspondientes cetonas **27** de manera muy sencilla mediante el periodinano de Dess Martin con rendimiento prácticamente cuantitativos; finalmente la eliminación de los grupos protectores mediante TMSI a baja temperatura, proporcionó los compuestos diana **20** con buenos rendimientos. (Esquema 3.13)



Esquema 3.13. Ruta sintética de protección, oxidación y eliminación del grupo protector.

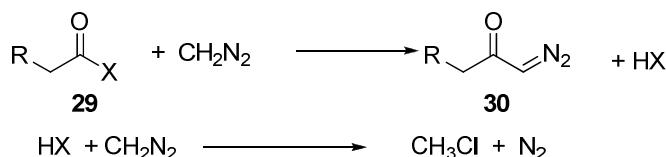
A la vista de estos resultados se puede afirmar que la ruta sintética aquí presentada en el **Paper V** resulta ser útil para la preparación de nuestros compuestos diana.

3.4. Síntesis de α -halocetonas mediante la reacción de Arndt-Eistert.

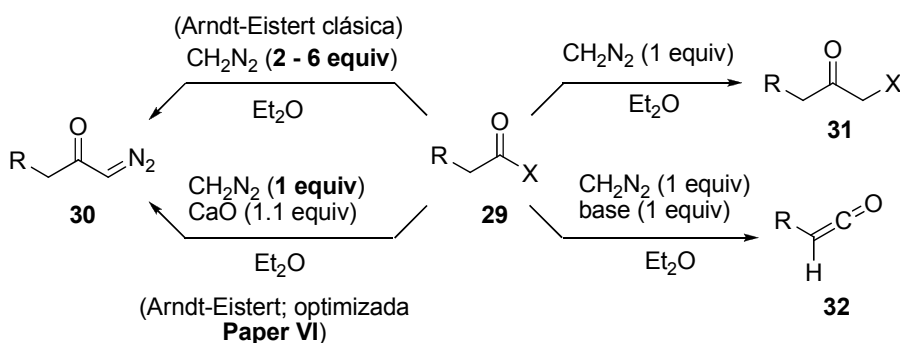
Debido al uso extensivo en las síntesis de α -aminoalquil- α' -clorometilcetonas de metodologías basadas en reacciones tipo homologación de funciones carboxílicas activadas (haluros de acilo, ésteres o amidas de Weinreb), tal y como se ha mencionado en la Introducción de la presente Tesis, con motivo de realizar un estudio exhaustivo de la síntesis de los compuestos diana α -arilamino- α' -clorometilcetonas, se ha procedido a la evaluación de estas metodologías descritas para la síntesis de nuestros compuestos.

En primer lugar, se ha procedido a aplicar la clásica reacción de homologación de Arndt-Eistert¹⁴ basada en la acilación del diazometano empleando el correspondiente haluro de ácido. Efectivamente, debido a la toxicidad y peligrosidad de este reactivo,^{5,15,16} su uso a escala industrial se ha ido reduciendo de forma paulatina, aunque recientemente Archibald ha publicado una revisión en la que subraya su potencialidad sintética en la preparación de inhibidores de las proteasas VIH:¹⁷ en particular, se matiza que, empleando condiciones de reacción muy cuidadosas, es posible emplear este reactivo también en procesos a gran escala. De manera similar, Proctor¹⁸ ha diseñado recientemente un protocolo robusto para su preparación a nivel industrial, puesto que el diazometano sigue siendo un reactivo imprescindible, tanto por razones económicas como químicas (las reacciones llevadas a cabo con diazometano normalmente proceden con rendimientos muy altos).

Normalmente, la típica reacción de Arndt-Eistert se lleva a cabo tratando el haluro de ácido con un exceso de diazometano con obtención de una α -diazocetona intermedia. El uso de un exceso de diazometano se justifica para minimizar la formación de productos no deseados (entre ellos cetonas o directamente la α -halocetona). Tal y como se puede ver en el Esquema 3.14, la formación de un equivalente de α -diazocetona libera un equivalente de ácido halogenhídrico (HX), el cual puede reaccionar directamente con la α -diazocetona intermedia con consiguiente obtención directa de la α -halocetona **31** (Esquema 3.15)



Esquema 3.14. Clásica reacción de Arndt Eistert.

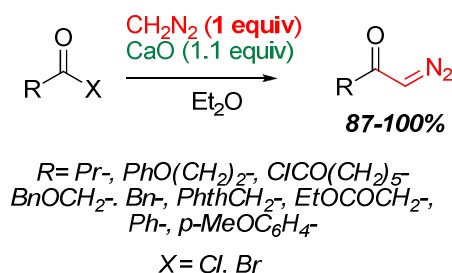


Esquema 3.15. Productos derivados de la reacción de Arndt Eistert.

Sin embargo, al emplearse tan solo un equivalente de diazometano en presencia o en ausencia de una base, la liberación de HX puede dar lugar tanto a reacciones no deseadas en presencia de funciones químicas lábiles en medio ácido, como a la formación de la α -clorocetona en condiciones no controladas.

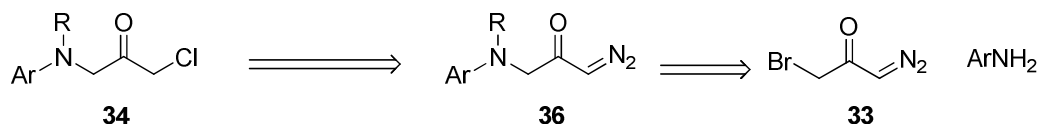
Con lo cual, debido a estos posibles inconvenientes, si se procede mediante el aislamiento de la α -diazocetona y posterior acidólisis controlada (adición continua de pequeñas cantidades de ácido a baja temperatura), se puede obtener la α -clorocetona con altos rendimientos.² Por otra parte, el uso de compuestos α -diazocarbonílicos en Síntesis Orgánica no se limita a la reacción de Arndt-Eistert, con lo cual consideramos conveniente verificar la posibilidad de establecer las condiciones para obtener de manera selectiva compuestos tipo α -diazocetonas.^{16,19,20}

Con motivo de reducir al mínimo la cantidad de diazometano necesaria en reacciones de preparación de α -diazocetonas, se ha desarrollado un método práctico para la obtención de dichos compuestos empleando tan solo un equivalente de diazometano (esquema 3.16, **Paper VI**). Es interesante remarcar que, contrariamente a las metodologías previamente descritas acerca del uso de este reactivo en cantidad estequiométrica, la presencia de óxido cálcico (1 equiv.) permite obtener rendimientos excelentes de α -diazocetonas a partir de haluros de acilo diferentemente sustituidos. En particular, este protocolo resulta muy eficaz cuando se emplean haluros de ácidos que presentan hidrógenos en la posición α , susceptibles de dar lugar a reacciones de formación de cetenas (Esquema 3.15, **32**) en ausencia de un gran exceso de diazometano.



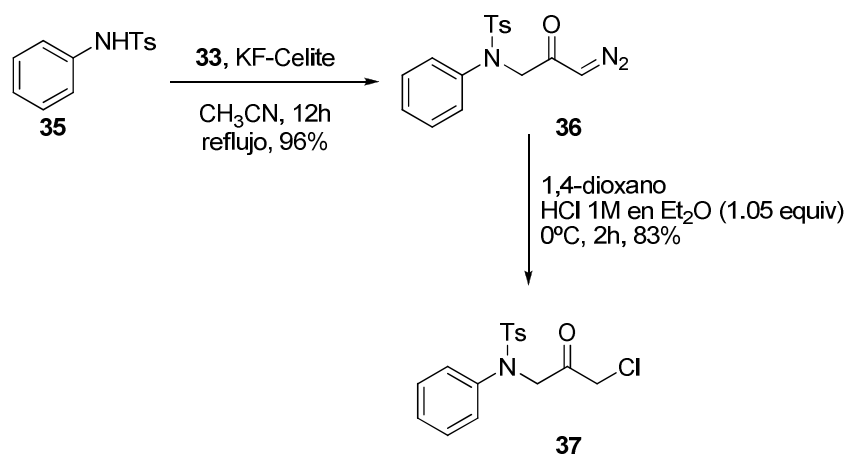
Esquema 3.16. Síntesis de α -diazocetonas empleando un solo equivalente de diazometano en presencia de CaO.

Entre las α -diazocetonas obtenidas con esta metodología destacaremos la 1-bromo-3-diazopropan-2-ona (**33**) que, de acuerdo al esquema retrosintético representado en el Esquema 3.17, constituye el síntón electrófilo necesario para llegar al compuesto, precursor directo de la 3-amilamino-1-cloropropan-2-ona (**34**).



Esquema 3.17. Retrosíntesis del compuesto **34** a partir del diazo derivado **33**.

Para ello, se decidió emplear la *N*-tosilanilina **35**, puesto que este mismo compuesto ha sido previamente empleado en reacciones de sustitución nucleofílica con diazo derivados.²¹ La reacción de desplazamiento en presencia de KF-Celite proporcionó el compuesto **36** con un excelente rendimiento. (Esquema 3.18)



Esquema 3.18. Síntesis de la α -clorocetona **37** mediante la reacción de Arndt-Eistert.

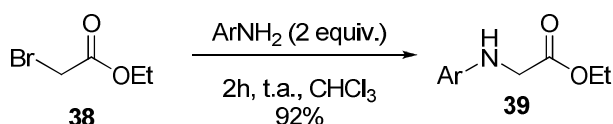
La siguiente reacción de acidólisis de la α -diazocetona intermedia proporciona con altos rendimientos la correspondiente α -clorocetona *N*-protegida. Sin embargo, la eliminación del grupo tosilo, como era de esperar debido a la conocida dificultad en llevarse a cabo, no pudo lograrse a través de los distintos protocolos de reacción empleados para ello: HBr-AcOH,²² TMSI,²³ SmI₂.²⁴ Evidentemente, hay que considerar que la presencia de una función química muy reactiva, tal y como es la α -clorocetona, condiciona de manera considerable la posibilidad de intervenir con condiciones duras como las normalmente empleadas en dichas eliminaciones: TiCl₃-Li,²⁵ Mg-MeOH.²⁶

A pesar de la imposibilidad en llevar a cabo el paso de remoción del grupo protector, el estudio de este tipo de homologaciones ha permitido obtener un protocolo altamente quimioselectivo para la síntesis de α -diazocetonas que, de todas formas representan unos sintones muy versátiles en síntesis orgánica. (Paper VI)

3.5. Uso de carbenóides de litio para la preparación de 3-arilamino-1-cloropropan-2-ones.

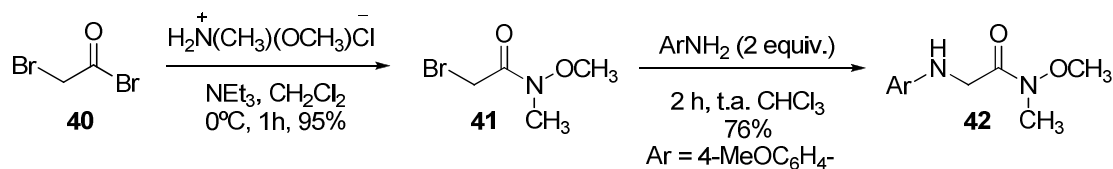
Procediendo de manera paralela a las técnicas de síntesis empleadas para la preparación de las α -aminoalquil- α' -clorometilcetonas, se decidió evaluar el potencial sintético de las reacciones de homologaciones de derivados de ácidos carboxílicos tipo ésteres. Tal y como se ha destacado en la Introducción de la presente Tesis, este tipo de reacciones se basa en la preparación de carbenoides de litio (tipo LiCH_2X) a -78°C *in situ*, a partir del correspondiente dihalometano y una base orgánica de litio.

En primer lugar se procedió mediante simples reacciones de sustitución nucleofílica a la preparación de los ésteres (Esquema 3.19)



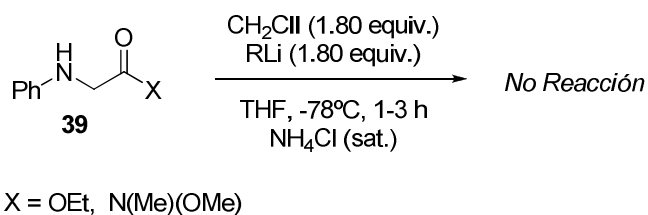
Esquema 3.19. Síntesis de los α -aminoaril ésteres de partida.

Por otro lado, las amidas de Weinreb se han preparado (Esquema 3.20) a partir del derivado sintetizado según una metodología descrita previamente.²⁷



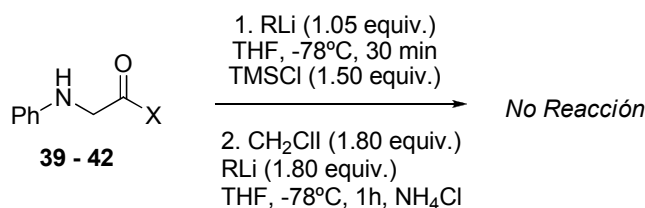
Esquema 3.20. Síntesis de las amidas de Weinreb.

Posteriormente, se sometieron estos derivados **39** y **42** a las condiciones de reacción descritas para la obtención de las α -halocetonas:²⁸ CH_2ClI ó CH_2BrCl (1.80 equiv.), LiBr (1.80 equiv.), base de litio (1.8 equiv.), derivados de ácidos carboxílicos (1.0 equiv.), THF, -78°C . Con sorpresa, en ninguno de los casos se pudo observar traza alguna de los productos deseados a pesar del número extenso de bases empleadas para la generación de los carbenoides de litio: *n*-BuLi, *s*-BuLi, *t*-BuLi, MeLi, LDA, LiTMP, Li. (Esquema 3.21)



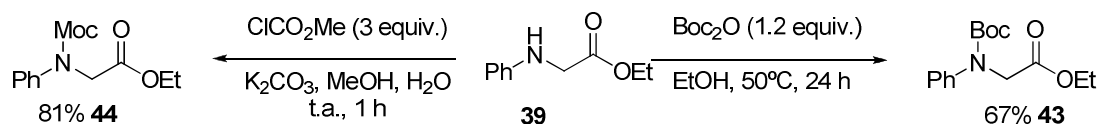
Esquema 3.21. Intento de la reacción de homologación de α -aminoésteres que presentan la función secundaria N-H.

Esta falta de reactividad se atribuyó a la capacidad de estas bases orgánicas de abstraer el protón ácido N-H, de manera análoga a lo observado por Hilpert *et al.*²⁹ en el caso de los correspondientes derivados de tipo alquilamínico. Estos autores, para evitar que la base orgánica actuase desprotonando el nitrógeno, han propuesto la protección del grupo amínico *in situ* mediante una reacción de *N*-sililación, tal y como se ha mostrado en la Introducción. Debido a la inestabilidad de funciones tipo *N*-sililaminas³⁰, y aunque nuestra reacción se haya llevado a cabo con distintos derivados de ácidos carboxílicos en condiciones de estricta ausencia de agua, las reacciones no han seguido el camino esperado, habiendo recuperado totalmente también en estos casos los productos de partida (Esquema 3.22)



Esquema 3.22. Intento de homologación con carbenóides de litio, previa protección *in situ* con TMSCl.

A la vista de esta falta de reactividad observada, se evaluó la posibilidad de proteger el nitrógeno del α -aminoéster **39b** con grupos protectores tipo carbamato. En particular, se recurrió al Boc carbamato y al Moc carbamato, puesto que presentan un distinto impedimento estérico. Su síntesis se llevó a cabo mediante el tratamiento de los α -aminoésteres preparados anteriormente con agentes acilantes, tal y como se representa en el esquema 3.23.



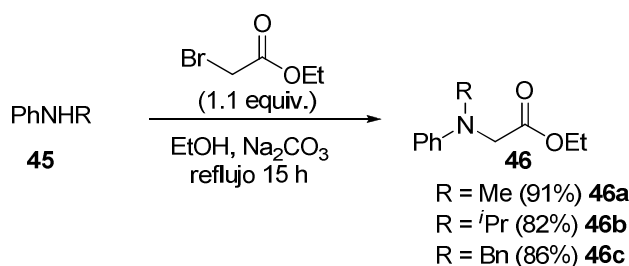
Esquema 3.23. Preparación de los α -arilaminoésteres *N*-protegidos.

Desafortunadamente, también el uso de estos α -aminoésteres protegidos en forma de carbamatos, **43** y **44**, se reveló infructuoso a la hora de intentar la homologación bajo las condiciones clásicas de reacción empleadas anteriormente. En particular, es de destacar la ausencia total de reactividad observada a la hora de preparar el carbenoide de litio a temperatura muy baja (-115°C), según el protocolo descrito por Villieras y cols.³¹ Este hecho se interpretó considerando la enolización que sufren compuestos carbonílicos análogos, tipo α -aminocetonas, como se recoge en un trabajo previo de Garst y cols.³² en el cual se resalta que, en el caso de aminocetonas cuyo nitrógeno está sustituido por un grupo carbamato, la enolización predominante se observa a nivel del nitrógeno, con independencia del tipo de base empleada. Evidentemente, el simple sustituyente arílico en el nitrógeno del α -aminoéster no solo incrementa la acidez del protón N-H, sino también la de los protones vecinales tanto al nitrógeno como a la función carbonílica.

Para comprobar esta hipótesis se decidió proceder mediante dos distintos protocolos:

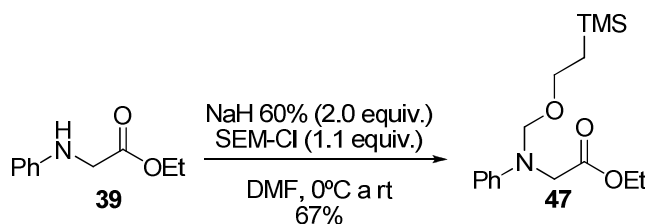
- 1) empleo de α -aminoésteres que presenten sustituyentes donadores de electrones en el átomo de nitrógeno;
- 2) uso en la reacción de homologación de un α -aminoéster que no presente átomos de hidrógeno ácidos en la posición vecinal al carbonilo y al nitrógeno.

En el primer caso, se procedió a la preparación de los derivados tipo *N*-metilo, *N*-isopropilo y *N*-bencilo mediante un protocolo descrito previamente³³, recogido en el esquema 3.24.



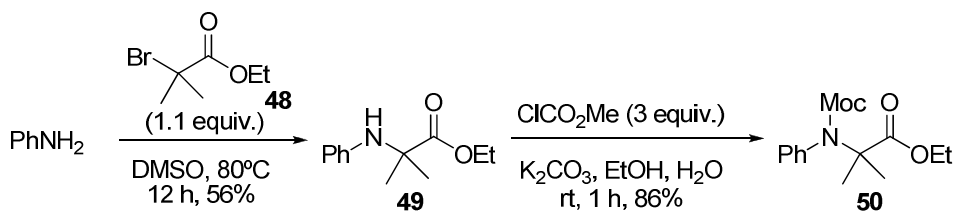
Esquema 3.24. Síntesis de α -aminoésteres *N,N*-diprotegidos.

Paralelamente, se preparó el α -aminoéster **47** protegido con el grupo *N*-SEM [2-(trimetilsilil)etoximetil] (Esquema 3.25), que se diferencia de los mencionados anteriormente por su rápida eliminación mediante tratamiento ácido.³⁴



Esquema 3.25. *N*-SEM protección del α -aminoéster **39b**.

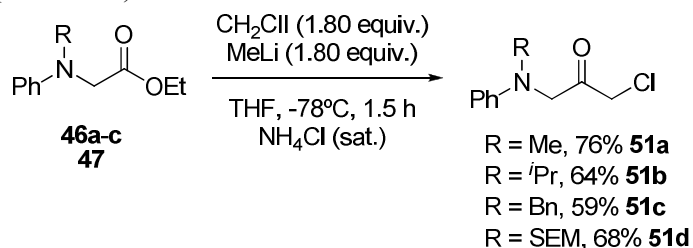
Por otro lado, la síntesis de los derivados que presentan una cadena de tipo *iso*-butílico, **49** y **50** se efectuó a partir de anilina y 2-bromo-2-methylpropanoato de etilo (se efectuó (Esquema 3.26).



Esquema 3.26. Síntesis del derivado **50**.

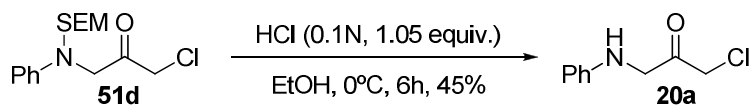
Una vez sintetizados los correspondientes ésteres **49** y **50**, se procedió a la evaluación de su reactividad en reacciones con carbenoides de litio, empleando las mismas condiciones de reacción que condujeron anteriormente a resultados nulos.

Efectivamente, el uso de α -aminoésteres de tipo terciario se reveló eficaz en todos los casos, observándose la transformación en las α -clorocetonas en todos los casos con buenos rendimientos (Esquema 3.27)



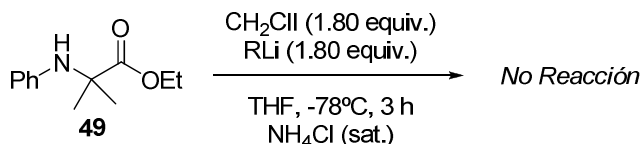
Esquema 3.27. Reacción de homologación de derivados que presentan grupos *N*-alquilo.

Puesto que la ruptura de un enlace carbono alifático-nitrógeno requiere condiciones de reacción energéticas, por ejemplo la hidrogenólisis del grupo bencilo,³⁰ se optó por eliminar solamente el derivado *N*-SEM protegido (Esquema 3.28). Para ello, se trató la α -clorocetona protegida **51d** con una disolución 0.1N de ácido clorhídrico en etanol; a pesar de haber obtenido un rendimiento moderado de **20a**, 45%, la reacción no se pudo optimizar puesto que tal y como indicamos anteriormente (**Paper IV**) estas clorocetonas presentan problemas de estabilidad en medio ácido. Efectivamente, el uso de condiciones de reacción más energéticas, como el calentamiento o el uso de ácido clorhídrico más concentrado (1-2N) conduce a la obtención de mezclas complejas de reacción.



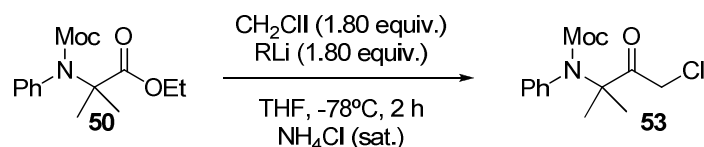
Esquema 3.28. Deprotección del grupo SEM.

Por otro lado, se procedió a la evaluación de la reactividad de los derivados que no presentan átomos de hidrógeno en la posición enolizable. Tal y como se muestra en el Esquema 3.29, se observó falta de reactividad para el compuesto en cuya estructura aparece una amina secundaria. Este hecho representa una confirmación adicional de la hipótesis avanzada por Izawa y cols.³⁵ según los cuales este tipo de homologaciones mediante carbenóides de litio han de ser efectuadas en ausencia de átomos de hidrógeno sobre el nitrógeno.



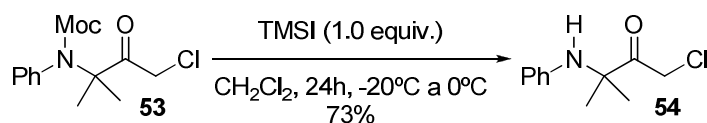
Esquema 3.29. Intento de homologación de **49** que, presenta una función función N-H libre.

Finalmente, se efectuó la homologación del compuesto que presenta simultáneamente dos grupos metilos en la posición vecinal al carbonilo y un grupo protector Moc en el átomo de nitrógeno. Efectivamente, en este caso se pudo llevar a cabo la reacción de homologación con alto rendimiento (Esquema 3.30), quedando de esta manera demostrada la hipótesis inicial del efecto de la presencia de átomos de hidrógenos ácidos en reacciones de homologación con carbenóides de litio.



Esquema 3.30. Homologación del derivado **50**, que no presenta hidrógenos en la posición α .

El paso final de la ruta sintética, es decir la eliminación del grupo protector Moc, se llevó a cabo (Esquema 3.31) mediante tratamiento con TMSI tal y como se describe detalladamente para compuestos análogos en el **Paper V**.



Esquema 3.31. Desprotección selectiva del Moc carbamato.

Se puede concluir, por tanto, que el uso de reacciones de homologación a través el uso de carbenóides de litio no resulta ser aplicable a los precursores directos de las moléculas diana de este estudio: evidentemente, las bases orgánicas de litio necesarias para la generación del carbenoide *vía* intercambio halógeno-litio, en presencia de átomos de hidrógeno ácidos como son aquellos situados en la posición vecinal a un carbono carbonílico, actúan abstrayendo dichos protones, impidiendo la formación del carbenóide necesario.

3.6. Planteamiento sintético de 3-amilamino-1-cloropropan-2-onas a partir de la 1,3-dicloroacetona.

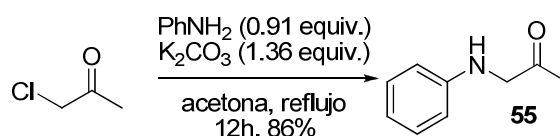
Otro planteamiento sintético considerado para la preparación de las moléculas dianas se basó en el empleo de un reactivo comercialmente disponible, la 1,3-dicloroacetona, puesto que en la bibliografía se recogen ejemplos (*vide infra*) tanto de su uso como de su análogo 1,3-dibromoacetona para la adición de una unidad de tres átomos de carbono a compuestos orgánicos.

Dichos reactivos presentan en su estructura tres átomos de carbono vecinales muy electrófilos, con lo cual resulta imprescindible encontrar unas condiciones de reacción que permitan obtener un proceso tanto regioselectivo como quimioselectivo.

Tal y como se puede comprobar en el **Paper VIII** las reacciones de desplazamiento nucleofílico llevadas a cabo empleando la 1,3-dicloroacetona en calidad de electrófilo han sido realizadas utilizando nucleófilos oxigenados tipo carboxilo,³⁶ fósforados de trifenilfosfina^{37,38} o azufrados, tipo tiofenoles,³⁹ mercaptanos alifáticos^{40,41} o de xantatos.^{42,43} Estos nucleófilos permiten obtener con altos rendimientos los correspondientes productos de mono o disustitución, dependiendo de la relación estequiométrica entre el nucleófilo y la 1,3-dihalocetona. Normalmente, estas reacciones se llevan a cabo en medio básico y, de acuerdo con la bibliografía, no se describen limitaciones particulares o reacciones concomitantes tipo

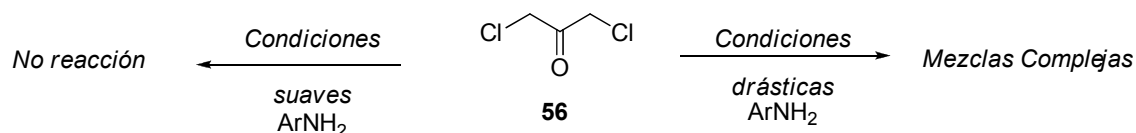
transposición de Favorskii⁴⁴ que puedan afectar a sistemas tipo α -halocarbonílicos en medio básico. Es de destacar la ausencia de ejemplos de sustituciones nucleofílicas llevadas a cabo sobre estos agentes electrófilos con nucleófilos nitrogenados, excepto cuando se trata de especies dinucleófilas para la preparación de sistemas heterocíclicos que presenten una función tipo clorometilo susceptible de posteriores modificaciones.⁴⁵⁻⁵¹ En este sentido, el requisito que debe poseer una amina aromática para su empleo en reacciones con sistemas 1,3-dihalocetónicos parece ser una elevada nucleofilia, como en el caso de las 2-aminopiridinas que reaccionan con dichos sustratos obteniéndose los arriba mencionados heterociclos.⁵²⁻⁵⁴

Sin embargo, recientemente un electrófilo tal como la 1-cloroacetona, ha sido empleado para la sustitución del átomo de cloro por parte de un residuo de anilina en medio básico, con obtención del compuesto **55**.⁵⁵



Esquema 3.32. Reacción entre 1-cloroacetona y anilina.

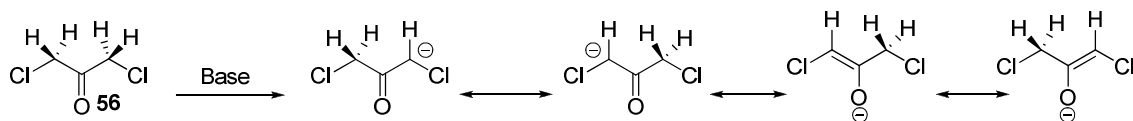
A partir de estos antecedentes, se intentó la reacción con la 1,3-dicloroacetona (**56**) de una serie de anilinas con distintos sustituyentes a nivel del anillo aromático ($R = H, OCH_3, NO_2$). Desafortunadamente, en ningún caso se pudo obtener el producto de sustitución nucleofílica. En ausencia de un factor activante como temperatura (-78°C hasta 30°C), base o microondas se recuperaron totalmente los productos de partida. Por otro lado, el uso de temperaturas superiores a los 30°C o el uso de bases de distinta naturaleza (inorgánicas: $NaHCO_3$, K_2CO_3 , KF , KF -Celite, $KF-Al_2O_3$, NaH , $NaNH_2$; orgánicas: TEA, DIPEA, TMEDA, $NaOEt$, $n-BuLi$, $t-BuLi$, LDA, LTMP) condujeron a la formación de productos de polimerización de imposible identificación analítica, tanto por RMN como por GC-MS. El uso de disolventes de distintas constantes dieléctricas (hexano, tolueno, benceno, CCl_4 , $(CH_2Cl)_2$, $CHCl_3$, CH_2Cl_2 , Et_2O , THF, MeTHF, $AcOEt$, acetona, nitrometano, 1,4-dioxano, CH_3CN , $EtOH$, TFE, DMF, DMSO, H_2O , $AcOH$) no mejora la reactividad ni permite nada más que la formación de mezclas complejas. Es interesante remarcar la ausencia de reactividad en presencia de sales de plata, tales como $AgBF_4$ o Ag_2CO_3 normalmente empleadas en síntesis orgánica para facilitar reacciones de desplazamiento nucleofílico de halógenos.⁵⁶



Esquema 3.33. Reactividad de la 1,3-dicloroacetona con aminas aromáticas.

La falta de reactividad observada mezclando simplemente la amina y la 1,3-dihalocetona puede explicarse considerando la baja nucleofilia de las aminas aromáticas. Sin embargo, al cambiar la amina aromática por una alifática tipo ciclohexilamina, se observa un instantáneo cambio del color de la mezcla de la reacción, con la formación de un producto gomoso imposible de identificar. Para explicar dichos fenómenos evidentemente hay que considerar la elevada acidez de los protones de dichos sistemas, tal y como se puede apreciar considerando tanto las estructuras de resonancia de los correspondientes sistemas enolato obtenidos por abstracción

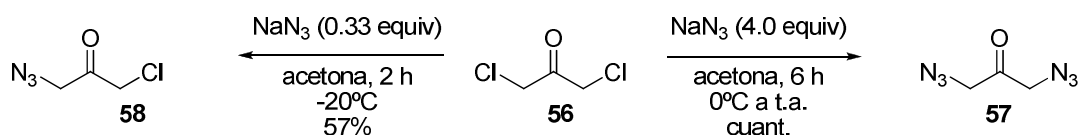
mediante una base de un protón, como el efecto inductivo sobre los mismos ejercido por parte del grupo carbonilo y del halógeno. (Esquema 3.34)



Esquema 3.34. Desprotonación de la 1,3-dicloroacetona mediante una base.

El hecho de que una amina alifática de lugar a una mezcla compleja puede interpretarse atendiendo a su comportamiento como base en lugar de nucleófilo. De esta misma manera, el uso de bases fuertes como NaH o alquilios para la abstracción del protón de las anilinas origina el correspondiente anión que actúa sobre la 1,3-dihaloacetona como base y no como nucleófilo. Como consecuencia, la formación del correspondiente enolato de las 1,3-dihaloacetonas podría desencadenar procesos de polimerización o autocondensación intra y/o intermoleculares que explicarían la obtención de mezclas complejas. De hecho, un ulterior elemento de complejidad es representado por las posibles reacciones tipo Friedel-Crafts que pueden originarse de manera espontánea entre el electrófilo 1,3-dihaloacetona y el anillo aromático activado por la presencia de un grupo amino.

Evidentemente, la característica necesaria para que un potencial nucleófilo reaccione con las 1,3-dihaloacetonas es una elevada nucleofilia y una muy baja basicidad. Para demostrarlo, se recurrió al uso de la azida sódica, que cumple ambos requisitos. Efectivamente, en un disolvente polar aprótico como la acetona se pudo llevar a cabo el desplazamiento nucleofílico tanto de uno como de dos cloros dependiendo de las relaciones estequiométricas entre la 1,3-dicloroacetona **56** y la azida sódica. En particular, el uso de un exceso de este último reactivo (4.0 equiv.) proporciona únicamente el producto de disustitución **57**, con rendimiento cuantitativo. De manera análoga, un exceso de 1,3-dicloroacetona (3 equiv.) permite obtener la 1-azido-3-cloroacetona **58** como único producto de reacción. En este último caso se precisó llevar a cabo la reacción a baja temperatura (-20°C) de tal manera que solo uno de los dos átomos de cloro fuesen objeto de la sustitución por parte de la azida.



Esquema 3.35. Sustituciones nucleofílicas sobre la 1,3-dicloroacetona por parte de la azida sódica.

Este experimento nos permitió esclarecer de manera definitiva las características que debe poseer un nucleófilo de nitrógeno para reaccionar con un sustrato tipo 1,3-dihaloacetona. Efectivamente, un estudio teórico publicado por Lee y cols.⁵⁷ pone de manifiesto como la reacción entre un compuesto tipo α -halocarbonílico y un nucleófilo de nitrógeno no procede mediante un clásico mecanismo de sustitución directa (via S_N1 o S_N2) del nucleófilo sobre el metileno, sino que la reactividad viene matizada por la presencia del carbono carbonílico que influye de manera determinante en el ataque efectivo del nucleófilo. En este sentido, estos autores postulan tres posibles estadios de transición correspondientes a:

a) ataque del nucleófilo a nivel del carbono carbonílico y sucesiva eliminación del halógeno;

b) estructura cíclica cuyas cabezas de puente son el nucleófilo, el carbono carbonílico y el carbono halometilénico, y

c) estructura tipo enolato.

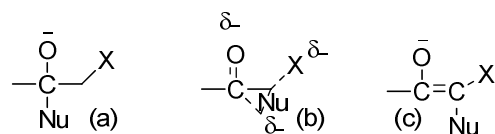


Figura 3.1. Posibles estadios de transición correspondientes a la reacción tra un nucleófilo y un compuesto α -carbonílico.

El uso de anilinas protegidas (como la *N*-Boc anilina o la *N*-tosil anilina) no modifica el comportamiento observado en ausencia de un grupo protector, observándose nuevamente la ya mencionada falta de reactividad en ausencia de factores activantes, o bien la formación de mezclas complejas en su presencia.

3.6.1. Reactividad de derivados de la 1,3-dicloroacetona con aminas aromáticas.

A la vista de la imposibilidad del uso de sistemas 1,3-dihalocarbonílicos en reacciones de sustitución nucleofílica con aminas aromáticas, se decidió estudiar de manera detallada la reacción entre aminas aromáticas y una serie de compuestos relacionados a las 1,3-dihalocetonas que, como característica común, presentan una función halometilénica en posición vecinal a la función carbonílica eventualmente enmascarada como acetal, oxima o enol éter.

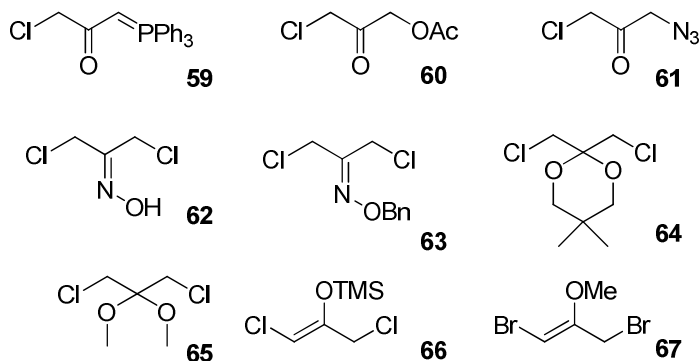
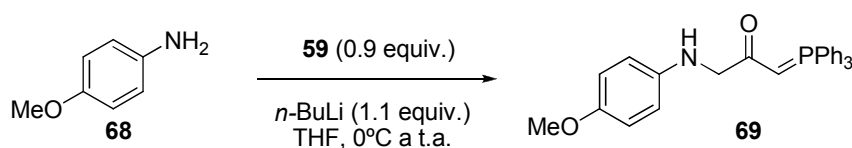


Figura 3.2. Electríflos derivados de la 1,3-dicloroacetona.

El sustrato **59** ha sido previamente empleado por el grupo de Medarde en reacciones con un compuesto análogo (fenol) mediante una simple alquilación en medio básico (NaH, DMF, t.a.).⁵⁸ Este mismo grupo de investigación ha usado este sintón para reacciones con nucleófilos nitrogenados tipo sodio diformilamida³⁸ o ftalimida potásica^{59,60} para la obtención de *N*-formilaminometilketonas con buenos rendimientos (60-62%). A primera vista, es interesante subrayar cómo, bloqueando uno de los dos sitios electríflos de la molécula en forma de fosforano, sí es posible llevar a cabo las reacciones de sustitución en las condiciones (100°C) a

la cual estos autores trabajan. La misma α -halo- α' -fosforanoacetona **59** ha sido empleada para alquilar distintas aminas secundarias alifáticas en ausencia de base, simplemente dejando reaccionar los reactivos a temperatura ambiente con altos rendimientos (72-80%).^{61,62} Recientemente, Cossy y cols.³⁷ han estudiado un protocolo para la funcionalización de átomos de nitrógeno protegidos (Boc, Cbz, Bn, Ts) con este fosforano, describiendo el empleo de una base fuerte como el *n*-BuLi a temperatura ambiente, obteniendo resultados satisfactorios (57-85%). Estos mismos autores atribuyen al tipo de base empleada para la reacción el éxito de la misma, puesto que el uso de NaH no condujo a la obtención del producto deseado.

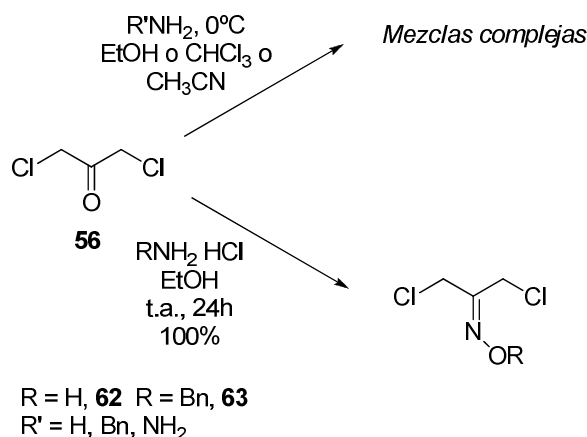
En nuestro caso, el uso de estas condiciones en la reacción entre **59** y la *p*-anisidina **68** permitió llevar a cabo la deseada sustitución nucleofílica con un modesto rendimiento (29%) que no pudo mejorarse al cambiar las condiciones de reacción (adición de la base a baja temperatura, uso de un exceso de amina o empleo de una base distinta, KF-Celite en acetonitrilo. (esquema 3.36)



Esquema 3.36. Uso del fosforano **59** en reacciones con una amina aromática.

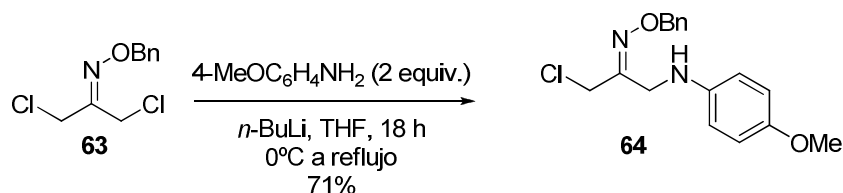
Posteriormente se empleó la 3-acetoxi-1-cloroacetona **60** para intentar la alquilación a nivel del clorometileno con una tosilamida en presencia de ioduro sódico como catalizador y carbonato potásico como base.⁶³ Desafortunadamente, esta reacción siguió un comportamiento completamente similar al observado con la 1,3-dicloroacetona, a pesar de los cambios efectuados, tanto a nivel de la base empleada como de temperatura y disolvente. Finalmente, un comportamiento completamente análogo se observó en presencia de la 1-cloro-3-azidoacetona, **61**, con lo cual se puede concluir que los sistemas que presentan tres átomos de carbono vecinales muy electrofílicos no reaccionan con aminas aromáticas en ausencia de un factor activante y desencadenan procesos de polimerización conduciendo a mezclas complejas en su presencia.

Posteriormente, se estudió la reacción de sustitución nucleofílica sobre isómeros de la 1,3-dicloroacetona, como son sus correspondientes oximas. Estos reactivos se han preparado de acuerdo con procedimientos previamente publicados a partir de la 1,3-dicloroacetona y las correspondientes clorhidratos de hidroxilaminas.⁶⁴ Estas reacciones condujeron a la obtención de los productos de adición nucleofílica al carbonilo de manera cuantitativa, lo que pone de manifiesto el hecho de que reactivos relativamente tales como las hidroxilaminas se adicionan regioselectivamente al carbono carbonílico en presencia de medio ácido. De hecho, la misma reacción sobre la 1,3-dicloroacetona **56**, llevada a cabo empleando la hidroxilamina, la *O*-bencilhidroxilamina o la hidracina en sus formas neutras dieron lugar a mezclas complejas, evidentemente debido a su capacidad de actuar como base en presencia de una función carbonílica no adecuadamente activada por un ácido. (Esquema 3.37)



Esquema 3.37. Formación de oximas a partir de la 1,3-dicloroacetone

Evidentemente, la protección del grupo carbonilo como benciloxima (**63**) resultó eficaz a la hora de intentar el desplazamiento nucleofílico con la *p*-anisidina en presencia de *n*-BuLi a temperatura ambiente: al emplear dos equivalentes de oxima se pudo obtener únicamente el producto deseado de monosustitución **64** con buen rendimiento (71%). (esquema 3.38) Por primera vez, se pudo emplear un análogo de la 1,3-dicloroacetona en una reacción de desplazamiento nucleofílico con una amina aromática, puesto que los antecedentes bibliográficos,⁶⁴⁻⁶⁶ relatan únicamente el uso de aminas alifáticas (por cierto no exentos de problemas parecidos). Este experimento puso de manifiesto que el enmascaramiento de la función carbonílica representa un requisito imprescindible para poder llevar a cabo tales reacciones. Desafortunadamente, los intentos de optimizar el rendimiento de la reacción cambiando la temperatura, la base (KH, Cs_2CO_3 , KF, NEt_3 , $t\text{-BuOK}$), o el disolvente resultaron ser ineficaces. A ese respecto hay que considerar también la posible descomposición que puede sufrir la benciloxima como consecuencia de un prolongado tratamiento térmico.⁶⁷



Esquema 3.38. Monosustitución llevada a cabo sobre la benciloxima.

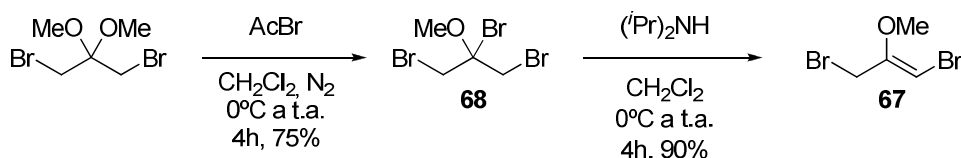
A la vista de este resultado positivo, se planteó la posibilidad de regenerar el carbonilo para llegar directamente a los compuestos dianas de la presente Tesis. El protocolo elaborado por Canet *y cols.*⁶⁴ basado en el uso de una resina ácida tipo Amberlyst-15 en una mezcla de acetona-agua a reflujo durante 48 horas no proporcionó el compuesto carbonílico, tal y como se pudo comprobar del espectro protónico. Alternativamente, ni el uso de $\text{Zn}(\text{BF}_4)_2$ recientemente descrito por Majee⁶⁸ (que no dio lugar a reacción) ni el uso de condiciones drásticas de tipo acidólisis prolongada a reflujo (HCl 6M en AcOH a reflujo), que proporcionó una mezcla compleja, resultaron ser aplicables a nuestra síntesis.

Posteriormente nuestra atención se centró en el empleo de sistemas tipo acetales, preparados de manera muy sencilla de acuerdo con antecedentes bibliográficos.⁷⁰ (esquema 3.39)



Para concluir este trabajo encaminado al estudio de la reactividad de aminas aromáticas con electrófilos derivados de las 1,3-dihalocetonas, se analizó el comportamiento de haluros de enol éteres tipo **67** y **66**. En particular, existe un antecedente bibliográfico del uso de **67** en reacciones de alquilación de alcoholes, entre ellos fenoles en presencia de hidruro sódico en 1,2-dimetoxietano (DME) o THF.⁷³ Estos autores remarcen las dificultades encontradas previamente⁷⁴ en el uso de la 1,3-dibromoacetona en reacciones de alquilación, puesto que se pueden observar fenómenos de dialquilación.

71



Esquema 3.40. Preparación del compuesto 67.

En segundo lugar se procedió a la preparación según el protocolo establecido en la bibliografía del derivado **66** que presenta una función tipo TMS enol éter.⁷⁵ (esquema 3.41) Esta estructura ha sido utilizada en reacciones de intercambio halógeno-nitrógeno procedente de litio trimetilsililamida en presencia de ioduro de plata con rendimientos modestos (*ca.* 30%).⁷⁶ De manera análoga existen ejemplos de alquilaciones de grupos *N*-acetoxiamínicos de quinazolonas con cloruros de silil enol éteres en diclorometano.⁷⁷



Esquema 3.41. Formación del silil enol éter 66.

Sin embargo, a la hora de reaccionar con la amina aromática, el metilenoéter no dio lugar a ningún tipo de reacción, pudiéndose recuperarse de manera cuantitativa incluso bajo condiciones de reacción drásticas (Cs_2CO_3 , DMSO, 150°C). Por otra parte la reacción entre el TMS enol éter y la anilina en etanol a temperatura ambiente proporcionó la cetona deseada con un modestísimo rendimiento del 10%. Los intentos de optimizar esta reacción fallaron completamente: en distintos disolventes (CH_2Cl_2 , DMSO, CH_3CN , EtOH) a temperatura ambiente no se observó reacción, mientras la adición de cualquier tipo de base (NaHCO_3 , NEt_3 , Cs_2CO_3 , MeLi) o el incremento de la temperatura ($>30^\circ\text{C}$) dio lugar a mezclas complejas. Es interesante remarcar que añadiendo KF-Celite a la mezcla de reacción se observa la reformación de la 1,3-dicloroacetona de partida. Parece que la naturaleza de las aminas aromáticas una vez más contribuye a la obtención de resultados muy negativos en reacciones con derivados de las 1,3-dihalocetonas, con lo cual se precisaron buscar alternativas para la síntesis de los compuestos deseados.

3.7. Empleo de 1-cloro-3-arilaminoacetonas en biorreducciones y estudios de Modelado Molecular.

La reducción enzimática de los compuestos obtenidos mediante los procedimientos anteriormente mencionados se efectuó usando dos distintos protocolos basados en el uso de una enzima purificada, la alcohol deshidrogenasa de *Thermus thermophilus* (ADHTi) y las células enteras de *Rhodococcus ruber*, empleadas con éxito en la reducción asimétrica de compuestos isómeros, las correspondientes 1-cloro-3-ariloxipropan-2-onas.⁷⁸

La ADH procedente del microorganismo *Thermus thermophilus* ha sido recientemente caracterizada⁷⁹ y clonada⁸⁰, y destinada al uso en reacciones de reducciones de carbonilos proquirales.^{79,80} En la praxis habitual, los estudios de modelado molecular se suelen llevar a

cabo una vez que se han efectuado experimentalmente las reacciones, en este caso de reducción, en objeto⁸¹. Sin embargo, debido al número relativamente exiguo de cetonas reducidas a los correspondientes alcoholes quirales mediante esta enzima, se decidió realizar un estudio predictivo de tipo cuantitativo (**Paper VII**) que permitiese estimar la conversión de algunas de las cetonas sintetizadas mediante las metodologías descritas en la presente Tesis Doctoral. Obviamente, como paso previo a la elaboración de dicho modelo predictivo, se ha realizado un estudio mecanístico acerca de la reducción estereoselectiva operada por esta enzima.

En este sentido, indicaremos que la *ADHTt* es una enzima perteneciente a la superfamilia de las alcohol-deshidrogenasa de cadena corta (SDR)^{82,83} en cuya estructura no están presentes cationes tipo zinc. Su estructura ha sido depositada recientemente en el Protein Data Bank⁸⁴ (código 2D1Y). El análisis estructural automatizado de *ADHTt* realizada mediante el software MOE⁸⁵ ha permitido identificar los residuos aminoácidos responsables de la actividad catalítica, Ser-135, Tyr-148 y Lys-152.

Posteriormente, se han empleado como sustratos modelo de nuestro estudio una serie de alcoholes, descritos previamente a través de procesos de reducción de fenil alquil cetonas (derivados de la acetofenona) por Raia y cols.⁷⁹ los cuales han sido sometidos a estudios de “*docking*” dentro del centro activo de la *ADHTt*. Este encaje de los alcoholes ha permitido el cálculo de la energía mínima de interacción entre cada uno de los dos posible enantiómeros (así como de las cetonas de partida) y la enzima, cuantificando diferencialmente dos distintas posibilidades de interacción con el sitio catalítico de la enzima. Es remarcable subrayar que el uso de un software distinto del MOE, y que por tanto emplea un campo de fuerzas diferente, el GROMACS,⁸⁶ proporciona resultados análogos en términos de interacción a los obtenidos mediante el MOE.

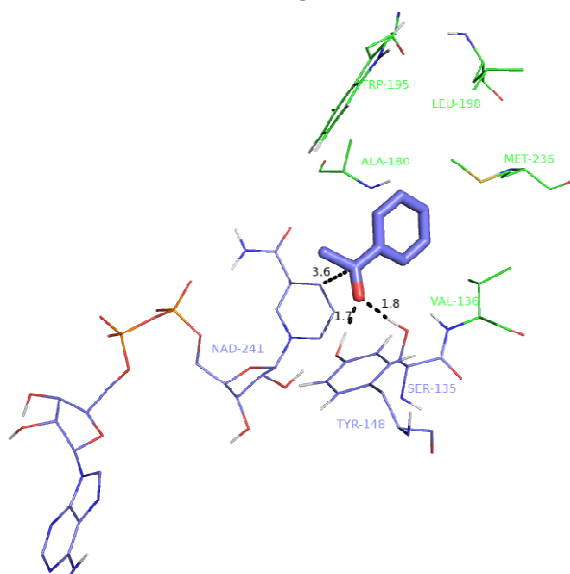


Figura 3.3. Modelo de “*docking*” de la acetofenona con la *ADHTt*.

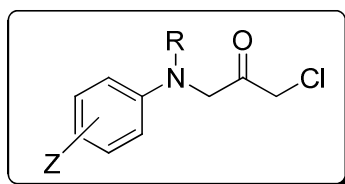
Desde un punto de vista estructural, la diferencia observada en los estudios de “*docking*” es relacionable a la posición relativa de la cara *re* o *si* de la cetona con respecto a la coenzima NADH, ejemplificados en la Figura 3.3 para el sustrato modelo (acetofenona).

En este sentido, se ha determinado la existencia de una cavidad hidrofóbica (en verde) en la estructura de la *ADHTt*, formada por los aminoácidos Val-136, Gly-179, Ala-180, Trp-195,

Leu-198 y Met-236. Es en esta zona donde se sitúa de forma preferencial la parte aromática de la fenil alquil cetona; este hecho, junto con la interacción del carbonilo del sustrato y los residuos Tyr-148 y Ser-135, posiciona de forma efectiva la cetona de manera que su cara *re* en la disposición efectiva para recibir el ataque del equivalente del hidruro procedente del NADH para originar el alcohol *S*.

Así, para todo el grupo de cetonas estudiadas, existe una correspondencia entre el enantiómero obtenido de forma mayoritaria en los estudios experimentales y aquél para el cual los cálculos teóricos prevén una energía de interacción más favorable con la enzima. A partir de estos valores de energías, se ha construido un modelo cuantitativo altamente fiable para predecir los porcentajes de conversión en función tanto de la energía de “*docking*” como de un parámetro electrónico σ que depende de las propiedades electrónicas de la aril alquil cetona considerada (**Paper VII**).

Una vez elucidado el mecanismo catalítico de la *ADHTt* en la biorreducción de estos derivados de la acetofenona, se procedió a realizar cálculos teóricos para discernir si un tipo distinto de cetonas, tales como las sintetizadas en la presente Tesis Doctoral, donde el grupo carbonilo se encuentra separado del anillo aromático por un aminometileno, podrían ser reducidas mediante esta enzima. De esta forma, aplicando protocolos de cálculo idénticos a los realizados en el **Paper VII**, se estudió el “*docking*” de los sustratos mostrados en el esquema 3.42 centro activo de la *ADHTt*.

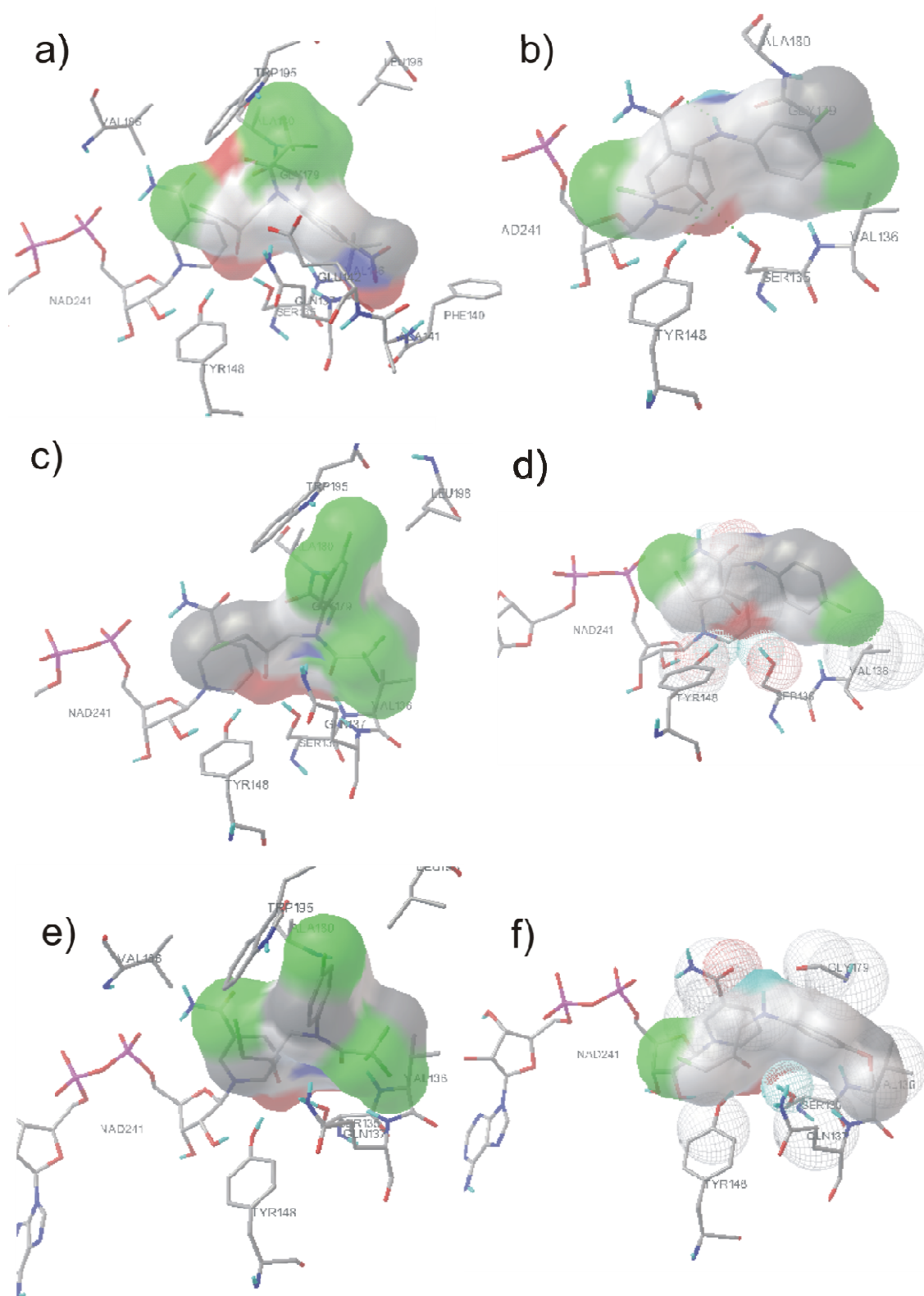


R = H, Z = H 20a	R = H, Z = 4-Cl 20b
R = COCF ₃ , Z = H 19a	R = COCF ₃ , Z = 4-Cl 19b
R = H, Z = 3-Cl 20l	R = H, Z = 4-OMe 20g
R = COCF ₃ , Z = 3-Cl 19l	R = COCF ₃ , Z = 4-OMe 19n
R = H, Z = 3-NO ₂ 20d	R = H, Z = 3-CN XX15
R = COCF ₃ , Z = 3-NO ₂ 19d	R = COCF ₃ , Z = 3-CN 19o
R = H, Z = 4-NO ₂ 20c	R = COCH ₃ , Z = H 19p
R = COCF ₃ , Z = 4-NO ₂ 19c	
R = H, Z = 3, 4-diCl 20m	
R = COCF ₃ , Z = 3,4-diCl 19m	

Esquema 3.42: Sustratos tipo 3-arilamino 1-cloroacetona probados en el centro activo de la *ADHTt*.

Los resultados aparecen reflejados en las Figuras 3.4, 3.5 y 3.6. El modo de unión “canónico” es el mismo que el postulado para los compuestos presentados en el **Paper VII**, puesto que el carbonilo cetónico es estabilizado por la Ser-135 y Tyr-148 mediante puentes de hidrogeno. En este modo, el anillo aromático encaja en el bolsillo hidrofóbico lateral y la amina interacciona con la amida del cofactor, de manera que ahora es la cara *si* la que se encuentra en la disposición efectiva para recibir el ataque del equivalente del hidruro procedente del NADH para originar el alcohol *R*. La energía de unión por “*docking*” es -5,59 kcal/mol para el compuesto **20a**.

75



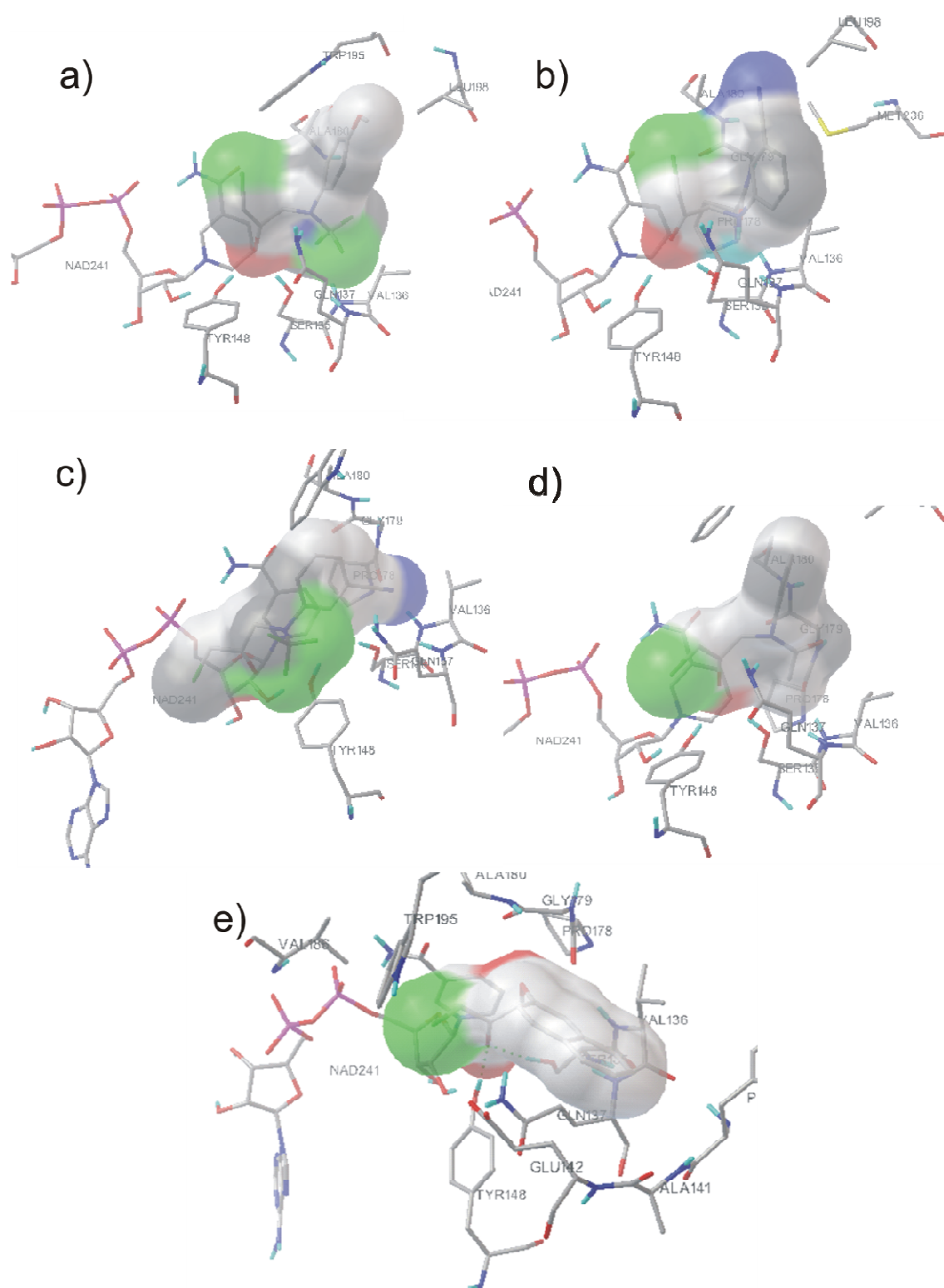
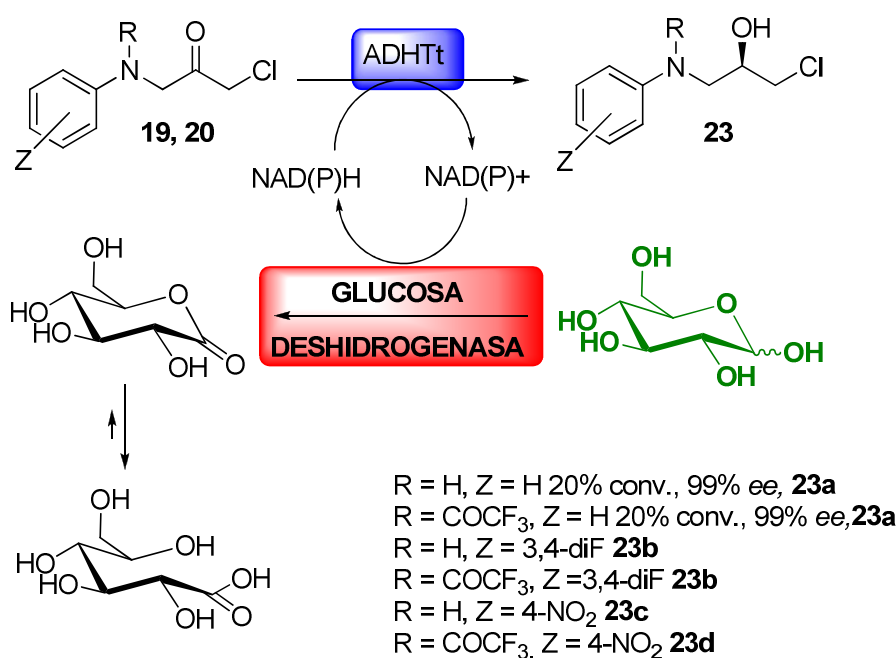


Figura 3.6. Docking de los sustratos en el centro activo de la *ADHTt*. **a)** Sustrato **19n** (E binding = -5,91 kcal mol⁻¹); **b)** Sustrato **20o** (E binding = -6,13 kcal mol⁻¹); **c)** Sustrato **19o** (E binding = -5,46 kcal mol⁻¹); **d)** Sustrato **19p** (E binding = -5,84 kcal mol⁻¹); **e)** Sustrato **19r** (E binding = -6,25 kcal mol⁻¹).

En todos los casos, tras llevar a cabo los protocolos de Dinámica Molecular (realizados de forma similar a los descritos en la Parte Experimental del **Paper VII**, se comprueba que, en principio, las moléculas estudiadas podrían ser susceptibles de ser reducidas por la *ADHTt*.

Así pues, ya que nuestros cálculos confirmaron la posibilidad efectiva de llevar a cabo la reducción, por lo que se procedió a la misma, como se representa en el esquema 3.43, empleando un derivado de *ADHTt* inmovilizado sobre agarosa, donado por el grupo del Profesor Guisán, del Instituto de Catálisis del CSIC, y obtenido según lo descrito experimentalmente.⁸⁰ La única diferencia estriba en el empleo de un diferente sistema de reciclado del cofactor, puesto que se utilizó glucosa y Glucosa Deshidrogenasa (GDH) en lugar de formiato/formiato deshidrogenasa.⁷⁹ (esquema 3.43)



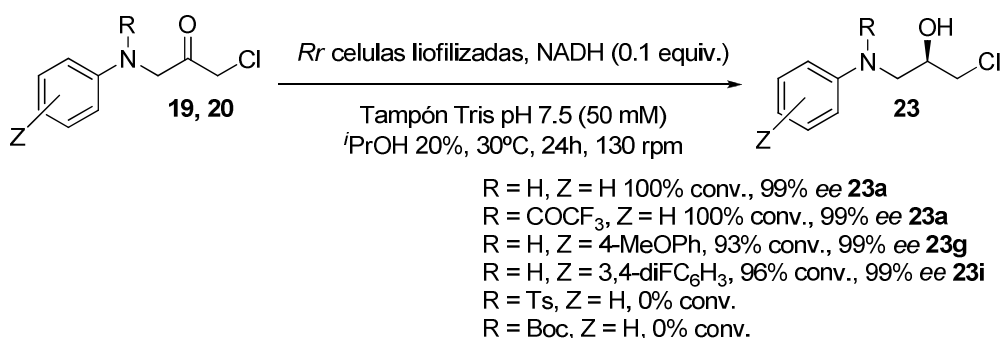
Esquema 3.43. Biorreducciones de 1-cloro-3-arilaminopropan-2-onas con *ADHTt*. Condiciones experimentales: NADH (1 mmol), cetona (20 mmol), tampón fosfato (50 mM), pH 6.0, *i*-PrOH 20%, 24 h, 50°C, 130 rpm.

No obstante, los resultados experimentales no resultaron acordes a los datos provenientes del modelado. En efecto, las conversiones no superaron el 20% en ninguno de los casos probados, aunque la estereoselectividad sí fue exquisita, superior al 99% en todos ellos. En este sentido, indicaremos que otros miembros del grupo de trabajo están continuando con este tema, iniciado por primera vez en el grupo con esta Tesis Doctoral, por lo que esperamos lograr resultados satisfactorios en un relativamente corto plazo de tiempo, identificando los factores que pueden hacer que los resultados previstos no coincidan con los experimentales.

A la vista de estas dificultades, se decidió recurrir a la segunda estrategia propuesta basada en el uso de las células enteras de *Rhodococcus ruber* tal y como descrito por Kroutil y cols.⁸⁷ Hasta la fecha aún no ha sido elucidada la estructura 3D de la alcohol-deshidrogenasa de este microorganismo, con lo cual no ha sido posible realizar estudios de modelado molecular.

La reducción de las α -clorocetonas indicadas en el esquema 3.44 se ha efectuado con conversión prácticamente cuantitativa y con un excelente exceso enantiomérico. Tal y como se puede ver,

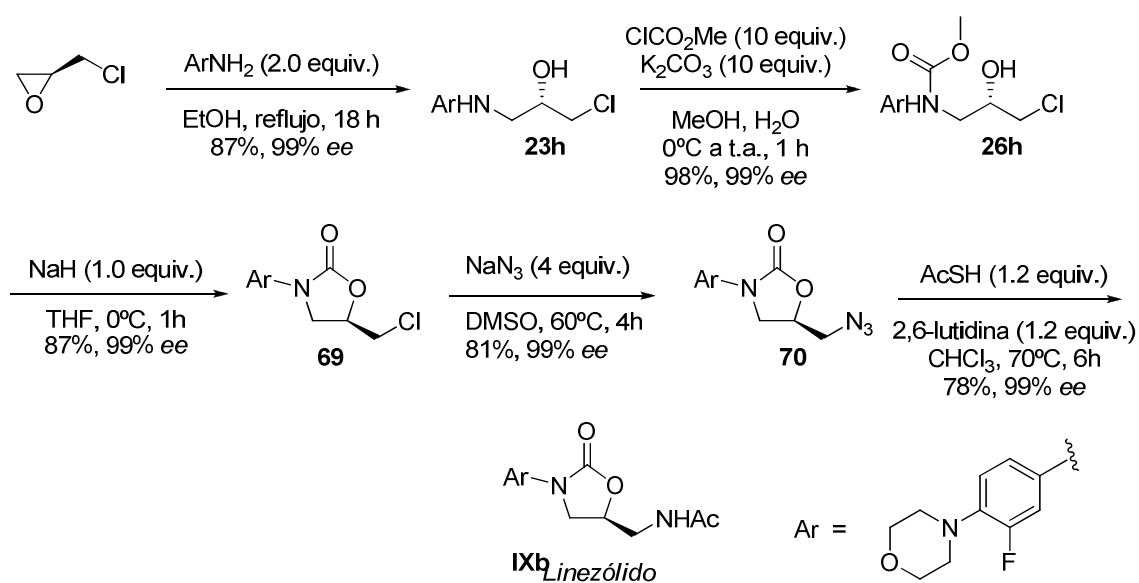
en dicho esquema, la posibilidad de llevar a cabo la reducción se ve determinada de manera fundamental por el impedimento estérico del sustituyente a nivel del nitrógeno. De hecho, la presencia de un grupo tipo Boc o tosilo impide completamente la reacción; por el contrario, funciones susceptibles de hidrólisis tal y como el grupo trifluoroacetilo, permiten que la correspondiente cetona sea reducida de manera sencilla. La presencia de sustituyentes de distintas características electrónicas a nivel del anillo aromático, resulta ser compatible con este protocolo. Es de destacar también la posibilidad de reducir mediante esta metodología cetonas cuyo grupo amino forma parte de un sistema tipo ftalimido.



Esquema 3.44. Biorreducciones con células enteras de *Rhodococcus ruber*.

Desafortunadamente, no se pudieron llevar a cabo con éxito las reducciones con derivados que presentan un grupo Moc a nivel del nitrógeno. En estos casos, se observa la formación de compuestos de difícil identificación. Tal y como se ha indicado con anterioridad, nuestro grupo sigue trabajando en este campo, en colaboración con el grupo del Profesor Kroutil, de la Universidad de Graz (Austria), por lo que pronto esperamos ser capaces de llevar a buen término los procesos de biorreducción.

Por tanto, y puesto que de momento la vía enzimática no ha permitido la obtención optimizada del linezólido, nuestra molécula objetivo, se decidió proceder a un protocolo alternativo de síntesis. Así, la síntesis de estos compuestos quirales por vía puramente química (esquema 3.45) ha proporcionado de una manera muy sencilla el linezólido. En primer lugar, la apertura de la (*S*)-epiclorhidrina enantioméricamente pura mediante tratamiento con la amina aromática⁸⁸ proporciona con un excelente exceso enantiomérico el β-aminoalcohol **23h** que se protege selectivamente (**Paper V**) en el átomo de nitrógeno con una función Moc obteniéndose el compuesto **26h**, cuyo carbono carbonílico actúa como posterior electrófilo en una reacción de ciclación altamente regioselectiva como consecuencia del ataque del hidroxilo en medio básico. Esta reacción podría proporcionar como subproducto el époxido derivado de la ciclación del hidroxilo a nivel del clorometileno. Sin embargo, el uso de hidruro sódico a 0°C⁸⁹ permite obtener exclusivamente el producto de ciclación tipo carbamato, **69**. Posteriormente el intercambio cloro-azida (**70**) y la reducción-acilación a la vez mediante el uso de ácido tioácetico-2,6-lutidina⁹⁰⁻⁹² proporcionan el linezólido (**X**). con alto rendimiento y un excelente exceso enantiomérico.



Esquema 3.45. Síntesis química del linezólido.

3.8. Bibliografía

- (1) Izawa, K.; Onishi, T. *Chem. Rev.* **2006**, *106*, 2811.
- (2) Reeder, M. R.; Anderson, R. M. *Chem. Rev.* **2006**, *106*, 2828.
- (3) Capriati, V.; Florio, S. *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 4152.
- (4) Black, T. H. *Aldrichim. Acta* **1983**, *16*, 3.
- (5) Proctor, L. D.; Warr, A. J. *Org. Proc. Res. Dev.* **2002**, *6*, 884.
- (6) VanBrunt, M. P.; Ambenge, R. O.; Weinreb, S. M. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 3323.
- (7) Johannsen, M.; Jorgens, K. A. *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 1689.
- (8) Salvatore, R. N.; Yoon, C. H.; Jung, K. W. *Tetrahedron* **2001**, *57*, 7785.
- (9) Maryanoff, B. E.; Reitz, A. B. *Chem. Rev.* **1989**, *89*, 863.
- (10) Blass, B. E. *Tetrahedron* **2002**, *58*, 9301.
- (11) Stork, G.; Danheiser, R. L. *J. Org. Chem.* **1973**, *38*, 1775.
- (12) Gelo, M.; Sunjic, V. *Synthesis* **1993**, 855.
- (13) Kimura, M.; Masuda, T.; Yamada, K.; Mitani, M.; Kubota, N.; Kawakatsu, N.; Kishii, K.; Inazu, M.; Kiuchi, Y.; Oguchi, K.; Namiki, T. *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, *11*, 3953.
- (14) Arndt, F.; Eistert, B. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1935**, *68*, 200.
- (15) Regitz, M.; Tawfik, A. M.; Heydt, H. *Synthesis* **1979**, 805.
- (16) Regitz, M.; Maas, G. *Diazo Compounds - Properties and Synthesis*; Academic Press: Orlando, 1986.
- (17) Archibald, T. G. *Chim. Oggi* **2000**, *18*, 34.
- (18) Proctor, L. D.; Warr, A. J. *Org. Proc. Res. Dev.* **2002**, *6*, 884.
- (19) Ye, T.; McKervey, M. A. *Chem. Rev.* **1994**, *94*, 1091.
- (20) Doyle, M. P.; McKervey, M. A.; Ye, T. *Modern Catalytic Methods for Organic Synthesis with Diazo Compounds. From Cyclopropanes to Ylides*; Wiley-Interscience: New York, 1998.
- (21) Pusino, A.; Saba, A.; Desole, G.; Rosnati, V. *Gazz. Chim. Ital.* **1985**, *115*, 33.
- (22) Alonso, D. A.; Andersson, P. G. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 9455.
- (23) Sabitha, G.; Reddy, B. V. S.; Abraham, S.; Yadav, J. S. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 1569.
- (24) Vedejs, E.; Lin, S. *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 1602.
- (25) Nayak, S. K. *Synthesis* **2000**, 1578.
- (26) Nyasse, B.; Grehn, L.; Ragnarsson, U. *Chem. Commun.* **1997**, 1017.
- (27) Balasubramaniam, S.; Aidhen, I. S. *Synthesis* **2008**, 3707.
- (28) Barluenga, J.; Baragana, B.; Concellon, J. M. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 6696.
- (29) Gohring, W.; Gokhale, S.; Hilpert, H.; Roessler, F.; Schlageter, M.; Vogt, P. *Chimia* **1996**, *50*, 532.
- (30) Greene, T. W.; Wuts, P. G. M. *Green's Protective Groups in Organic Synthesis*; 4 ed.; VCH: Weinheim, 2006.
- (31) Tarhouni, R.; Kirschleger, B.; Rambaud, M.; Villieras, J. *Tetrahedron Lett.* **1984**, *25*, 835.
- (32) Garst, M. E.; Bonfiglio, J. N.; Grudoski, D. A.; Marks, J. *J. Org. Chem.* **1980**, *45*, 2307.
- (33) Parisel, S. L.; Adrio, L. A.; Pereira, A. A.; Pérez, M. M.; Vila, J. M.; Hii, K. K. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 9822.
- (34) Zeng, Z.; C. Zimmerman, S. *Tetrahedron Lett.* **1988**, *29*, 5123.
- (35) Onishi, T.; Nakano, T.; Hirose, N.; Nakazawa, M.; Izawa, K. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 5887.
- (36) Caselli, E.; Tosi, G.; Forni, A.; Bucciarelli, M.; Prati, F. *Il Farmaco* **2003**, *58*, 1029.
- (37) Taillier, C.; Hameury, T.; Bellosta, V.; Cossy, J. *Tetrahedron* **2007**, *63*, 4472.
- (38) Alonso, D.; Caballero, E.; Medarde, M.; Tomé, F. *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 907.
- (39) Lukowska, E.; Plenkiewicz, J. *Tetrahedron: Asymmetry* **2007**, *18*, 1202.
- (40) Hjelmgaard, T.; Givskov, M.; Nielsen, J. *Org. Biomol. Chem.* **2007**, *5*, 344.
- (41) Li, B.; Lyle, M. P. A.; Chen, G.; Li, J.; Hu, K.; Tang, L.; Alaoui-Jamali, M. A.; Webster, J. *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 4601.
- (42) Bergeot, O.; Corsi, C.; Qacemi, M. E.; Zard, S. Z. *Org. Biomol. Chem.* **2006**, *4*, 278.

- (43) de Greef, M.; Zard, S. Z. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 1773.
- (44) Guijarro, D.; Yus, M. *Curr. Org. Chem.* **2005**, *9*, 1713.
- (45) Bakunova, S. M.; Bakunov, S. A.; Wenzler, T.; Barszcz, T.; Werbovets, K. A.; Brun, R.; Hall, J. E.; Tidwell, R. R. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 5807.
- (46) Gaudin, J.-M.; Nikolaenko, O.; de Saint Laumer, J.-Y.; Winter, B.; Blanc, P.-A. *Helv. Chim. Acta* **2007**, *90*, 1245.
- (47) Lilienkamp, A.; Mao, J.; Wan, B.; Wang, Y.; Franzblau, S. G.; Kozikowski, A. P. *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 2109.
- (48) Murru, S.; Singh, C. B.; Kavala, V.; Patel, B. K. *Tetrahedron* **2008**, *64*, 1931.
- (49) Rao, H. S. P.; Vasantham, K. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 6847.
- (50) Thoma, G.; Streiff, M. B.; Kovarik, J.; Glickman, F.; Wagner, T.; Beerli, C.; Zerwes, H.-G. *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 7915.
- (51) Zhao, Q.; Liu, S.; Li, Y.; Wang, Q. *J. Agric. Food. Chem.* **2009**, *57*, 2849.
- (52) Alagille, D.; Koren, A. O.; Kudej, G.; Staley, J.; Cosgrove, K.; Seibyl, J.; Tamagnan, G. D. *J. Label. Comp. Radioph.* **2008**, *51*, 202.
- (53) Henry, N.; Sánchez, I.; Sabatié, A.; Bénétteau, V.; Guillaumet, G.; Pujol, M. D. *Tetrahedron* **2006**, *62*, 2405.
- (54) Szabo, R. m.; Crozet, M. D.; Vanelle, P. *Synthesis* **2008**, 127.
- (55) Cruz, M. d. C.; Jiménez, F.; Delgado, F.; Tamariz, J. *Synlett* **2006**, 749.
- (56) Bloodworth, A. J.; Tallant, N. A. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1992**, 428.
- (57) Koh, H. J.; Han, K. L.; Lee, H. W.; Lee, I. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 4706.
- (58) Caballero, E.; Guilhot, F.; Luis López, J.; Medarde, M.; Sahagún, H.; Tomé, F. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 6951.
- (59) Caballero, E.; Alonso, D.; Pelaez, R.; Alvarez, C.; Puebla, P.; Sanz, F.; Medarde, M.; Tome, F. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 1631.
- (60) Caballero, E.; Alonso, D.; Pelaez, R.; Alvarez, C.; Puebla, P.; Sanz, F.; Medarde, M.; Tome, F. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 6871.
- (61) Astoin, J.; Lepage, F.; Poisson, M. *Eur. J. Med. Chem.* **1985**, *20*, 495.
- (62) Ellis, M. J.; Stevens, M. F. G. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **2001**, 3174.
- (63) Nishida, H.; Mukaihira, T.; Saitoh, F.; Harada, K.; Fukui, M.; Matsusue, T.; Okamoto, A.; Hosaka, Y.; Matsumoto, M.; Shiromizu, I.; Ohnishi, S.; Mochizuki, H. *Chem. Pharm. Bull.* **2004**, *52*, 406.
- (64) Goubert, M.; Canet, I.; Sinibaldi, M.-E. *Tetrahedron* **2009**, *65*, 4182.
- (65) Goubert, M.; Canet, I.; Sinibaldi, M.-E. *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, *2006*, 4805.
- (66) Goubert, M.; Toupet, L.; Sinibaldi, M.-E.; Canet, I. *Tetrahedron* **2007**, *63*, 8255.
- (67) Blake, J. A.; Ingold, K. U.; Lin, S.; Mulder, P.; Pratt, D. A.; Sheeller, B.; Walton, J. C. *Org. Biomol. Chem.* **2004**, *2*, 415.
- (68) Majee, A.; Shrishnu, K. K.; Islam, S. *J. Ind. Chem. Soc.* **2007**, *84*, 496.
- (69) Corsaro, A.; Chiacchio, U.; Pistarà, V. *Synthesis* **2001**, *2001*, 1903.
- (70) Isaka, M.; Ejiri, S.; Nakamura, E. *Tetrahedron* **1992**, *48*, 2045.
- (71) Rappe, C.; Gustafsson, R. *Acta Chem. Scand.* **1967**, *21*, 705.
- (72) Kühn, M. *J. Prakt. Chem.* **1940**, *156*, 103.
- (73) Edvardsen, K. R.; Benneche, T.; Tius, M. A. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 3085.
- (74) Nishizawa, M.; Adachi, K.; Hayashi, Y. *Tetrahedron Lett.* **1983**, *24*, 4447.
- (75) Shimizu, N.; Tanaka, M.; Tsuno, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 1330.
- (76) Murai, T.; Yamamoto, M.; Kondo, S.; Kato, S. *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 7440.
- (77) Atkinson, R. S.; Kelly, B. J.; Williams, J. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1992**, 373.
- (78) Poessl, T. M.; Kosjek, B.; Ellmer, U.; Gruber, C. C.; Edegger, K.; Faber, K.; Hildebrandt, P.; Bornscheuer, U. T.; Kroutil, W. *Adv. Synth. Catal.* **2005**, *347*, 1827.
- (79) Pennacchio, A.; Pucci, B.; Secundo, F.; La Cara, F.; Rossi, M.; Raia, C. A. *Appl. Environ. Microbiol.* **2008**, *74*, 3949.
- (80) Rocha-Martin, J.; Vega, D. E.; Cabrera, Z.; Bolivar, J. M.; Fernandez-Lafuente, R.; Berenguer, J.; Guisan, J. M. *Process Biochemistry* **2009**, *44*, 1004.

-
- (81) Nakamura, K.; Matsuda, T. Enzyme-catalyzed Reduction of Carbonyl Compounds. In *Modern Reduction Methods*; Andersson, P. G., Munslow, I. J., Eds.; Wiley-VCH Verlag GmbH & Co.: Weinheim, 2008; p 209.
- (82) Filling, C.; Berndt, K. D.; Benach, J.; Knapp, S.; Prozorovski, T.; Nordling, E.; Ladenstein, R.; Jornvall, H.; Oppermann, U. *J. Biol. Chem.* **2002**, *277*, 25677.
- (83) Oppermann, U.; Filling, C.; Hult, M.; Shafqat, N.; Wu, X.; Lindh, M.; Shafqat, J.; Nordling, E.; Kallberg, Y.; Persson, B.; Jörnvall, H. *Chem. Biol. Interact.* **2003**, *143-144*, 247.
- (84) Berman, H. M.; Westbrook, J.; Feng, Z.; Gilliland, G.; Bhat, T. N.; Weissig, H.; Shindyalov, I. N.; Bourne, P. E. *Nucl. Acids Res.* **2000**, *28*, 235.
- (85) MOE-2006.03; Chemical Computing Group, Inc.: Montreal, Canada, 2006.
- (86) Hess, B.; Kutzner, C.; Van der Spoel, D.; Lindahl, E. *J. Chem. Theory Comp.* **2008**, *4*, 435.
- (87) T. M. Poessl, B. K., U. Ellmer, C. C. Gruber, K. Edegger, K. Faber, P. Hildebrandt, U.T. Bornscheuer, W. Kroutil, *Adv. Synth. Catal.* **2005**, *347*, 1827.
- (88) Kimura, M.; Masuda, T.; Yamada, K.; Mitani, M.; Kubota, N.; Kawakatsu, N.; Kishii, K.; Inazu, M.; Kiuchi, Y.; Oguchi, K.; Namiki, T. *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, *12*, 3069.
- (89) Miyata, O.; Asai, H.; Naito, T. *Synlett* **1999**, *1999*, 1915.
- (90) Kolakowski, R. V.; Shangguan, N.; Sauers, R. R.; Williams, L. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 5695.
- (91) Rosen, T.; Lico, I. M.; Chu, D. T. W. *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 1580.
- (92) Shangguan, N.; Katukojvala, S.; Greenberg, R.; Williams, L. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 7754.

5. CONCLUSIONES

4. Conclusiones

1. Durante el desarrollo de la presente Tesis Doctoral se ha descrito por primera vez una metodología sintética para la obtención de compuestos tipo 1-halo-3-arilaminopropan-2-onas no descritos anteriormente en la Bibliografía. La reactividad de dichos compuestos ha sido explotada principalmente a nivel de la función carbonílica, siendo precursores versátiles de β -arilaminoalcoholes enantiopuros.
2. La síntesis ha sido compleja, debido a la imposibilidad de llevarla a cabo mediante la ruta sintética más directa, basada en el desplazamiento nucleofílico sobre un sustrato comercialmente disponible como la 1,3-dicloroacetona. Así, se ha concluido que esta dihaloacetona muy activada puede reaccionar con nucleófilos de nitrógeno siempre y cuando los mismos no presenten ninguna característica básica, como las azidas. Todo tipo de factores que permita activar la reacción (calor o presencia de bases) proporciona mezclas complejas de reacción en las que no se detecta la presencia del producto requerido. Por otro lado, la ausencia de factores activantes se traduce en falta de reactividad, recuperándose los productos de partida.
3. Posteriormente, se ha analizado la reactividad de una serie de aminas aromáticas con halocarbonilos. Es de destacar la descripción de un protocolo sintético basado en la reacción de Arndt-Eistert que permite la obtención de diazoacetonas empleando solo un equivalente de diazometano en presencia de un reactivo que elimina los ácidos como es el óxido cálcico. Este reactivo inorgánico resulta eficaz también en presencia de cloruros de ácidos que normalmente requieren un gran exceso de diazometano.
4. Se ha planteado una estrategia sintética para obtener tales compuestos mediante una reacción de hidrólisis oxidativa de cloruros vinílicos en presencia de hipocloritos. Para ello, se precisa un protocolo útil para la preparación de dichos cloruros vinílicos tipo *N*-(2-haloalil)anilinas, que al ser aminas secundarias aromáticas presentan inconvenientes en su preparación. Para ello, se ha llevado a cabo una síntesis previa altamente quimioselectiva basada en la presencia de una base soportada (KF-Celite) que permite obtener los cloruros vinílicos deseados con rendimientos muy altos, empleando sólo un ligero exceso de amina aromática con respecto al agente electrofílico (1.2 equiv. vs. 1.0 equiv.). La indeseada formación de aminas terciarias no es significativa, llegando a ser en todos los casos inferior al 15%. Este protocolo ha sido optimizado en lo que respecta al disolvente, temperaturas y efecto de los sustituyentes a nivel del anillo aromático. Es de destacar los excelentes resultados obtenidos en el caso de aminas muy poco nucleófilas, desactivadas con grupos electroattractores, para cuya síntesis están descritos procedimientos sintéticos mucho más complejos.
5. A la vista de los resultados positivos proporcionados para la funcionalización de nitrógenos aromáticos, el uso del fluoruro potásico soportado ha sido extendido a la reacción de *N*-derivatización de una serie de ftalimidas. En este caso, se ha concluido que el tipo de soporte juega un papel relevante, puesto que los resultados mejores se obtuvieron empleando el más básico KF-Alúmina. Es sorprendente destacar que los mejores resultados se han llevado a cabo empleando un disolvente procedente de fuentes renovables como es el 2-metiltetrahidrofurano (MeTHF). El sistema MeTHF / KF-Alúmina ha resultado efectivo también en el caso de sustratos biselectrofílicos

- (oxiranos); bajo otra perspectiva, este sistema heterogéneo resulta ser absolutamente complementario al KF-Celite / acetonitrilo, puesto que, en caso de reacciones con dos centros potencialmente susceptibles de alquilación, la elección del soporte de la base y del disolvente representa el elemento discriminatorio y por lo tanto es el responsable de la regioselectividad.
6. El mismo reactivo KF-Alumina ha sido empleado con éxito en procesos tipo Horner-Wadsworth-Emmons de ciclación intramolecular de un iluro sobre una imida lo que constituye el primer ejemplo del uso de reactivos soportados básicos en este tipo de química. Es de destacar que este trabajo ha permitido llevar a cabo la síntesis de sistemas tricíclicos susceptibles de posteriores funcionalizaciones a nivel de la posición vecinal de la cetona α,β -insaturada obtenida en la reacción de ciclación.
 7. Posteriormente los cloruros vinílicos obtenidos mediante alilación quimioselectiva con KF-Celite han sido utilizados como los precursores efectivos de nuestras moléculas diana. Desafortunadamente, los intentos de oxidación de la función olefínica activada con hipocloritos no son aplicables, puesto que se producen reacciones no deseadas de halogenación aromática debido, a la activación del anillo aromático por parte del grupo amino. Por tanto, se precisó introducir un grupo protector capaz de desactivar la parte aromática; a este efecto, grupos como carbamatos y acetamidas no son capaces de impedir completamente la halogenación aromática. Sin embargo, la introducción (realizada con rendimiento cuantitativo) de una trifluoroacetamida en presencia de $\text{Cu}(\text{OTf})_2$ permite obtener de manera cuantitativa la oxidación del compuesto de partida. Se ha llevado a cabo un estudio mecanístico que demuestra la necesidad de usar un medio acuoso ácido para que se obtenga la reacción. La reacción de eliminación del grupo protector se ha llevado a cabo en condiciones de reacción muy suaves (NaHCO_3) que no afectan a la función halocetónica. Se puede concluir por lo tanto que el uso de grupos protectores, cuya introducción y eliminación normalmente suele afectar a la economía sintética, en este caso no se lleva a cabo de manera muy eficiente. Sin embargo, en presencia de grupos activantes como el 4-morfolino, se observa la halogenación aromática incluso en presencia de un grupo trifluoroacetamido. Este hecho permite demostrar la intervención de intermedios tipo *N*-cloroaminas que actúan como potentes agentes clorantes. El estudio pone de manifiesto que el tipo de catión del hipoclorito resulta ser determinante a efectos de quimioselectividad, siendo el hipoclorito de calcio mejor que el sódico.
 8. La imposibilidad de oxidar β -arilaminoalcoholes de manera directa con distintos oxidantes ha planteado la posibilidad de la existencia de enlaces de hidrógeno intra e intermoleculares, que inhiben la oxidación de dichos aminoalcoholes no protegidos. El estudio espectroscópico IR y el cálculo mecánico-cuántico revela la presencia de estos enlaces incluso a bajas concentraciones. Como paso previo a la oxidación de dichos compuestos *N*-protegidos, se estudió un protocolo para su preparación de forma regioselectiva, pudiendo tanto la amina como el alcohol actuar como nucleófilos en reacciones con agentes acilantes. Es de destacar la posibilidad de emplear un medio alcohólico-acuoso básico que permite la obtención cuantitativa de alcoholes *N*-uretanoprottegidos que, posteriormente se oxidan con rendimientos excelentes con el periodinano de Dess-Martin. La reacción de desprotección llevada a cabo con TMSI a baja temperatura permite obtener los compuestos deseados con altos rendimientos.

9. El estudio predictivo de modelado molecular ha permitido esclarecer el mecanismo catalítico de la reducción de las halocetonas por parte de la enzima ADH de *Thermus thermophilus*; el sistema de “dockings” y dinámicas de compuestos reducidos con dicha enzima han servido de base para la descripción de un modelo cuantitativo. Se ha visto que el eventual grupo protector de nitrógeno, determina la posibilidad de llevar a cabo la reducción. En este sentido, el halógeno más activo resultó ser el cloro, con lo cual el trabajo de síntesis paralelo ha sido enfocado hacia la preparación de las 2-clorocetonas. Con respecto al grupo protector, el impedimento estérico del grupo Boc on del grupo tosilo impide la reacción.
10. Se ha llevado a cabo procesos de biorreducción de diferentes moléculas tipo 1- arilamino-3-cloro acetona tanto con enzimas aisladas (alcohol deshidrogenasa de *Thermus thermophilus*) como células enteras (*Rhodococcus ruber*). En el primer caso, a pesar de los resultados predichos por un estudio de Modelado Molecular, los resultados no fueron satisfactorios en términos de conversión (aunque sí en lo que respecta a la pureza óptica de los reactivos); con las células, sí se consiguieron altos valores de conversión y exceso enantiomérico, aunque no todos los sustratos sometidos a estudio fueron eficazmente reducidos, siendo probablemente el impedimento estérico del grupo protector del nitrógeno el responsable de este hecho.
11. Se ha desarrollado una ruta sintética para la preparación del linezólido por vía química a partir de una epiclorohidrina enantiopura: es de destacar que la reacción de ciclación de la función alcohólica sobre el carbamato procede con absoluta regioselectividad.